

Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth

Experimente zu radiologisch-chemotherapeutischer Synzytostase

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von
Rainer Steckenmesser
aus Dillenburg

Gießen 1968

1969

Aus der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. Dr. G. Barth

Experimente zu radiologisch-chemotherapeutischer Synzytostase

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät
der
Justus Liebig-Universität
Gießen

vorgelegt von

Rainer Steckenmesser
aus Dillenburg

Gießen 1968



Dekan: Professor Dr. med. A. Oksche

Referent: Priv. Doz. Dr. med. D. Ringleb

Korreferent: Prof. Dr. med. H. J. Dengler

Tag der mündlichen Prüfung: 21. März 1969

INHALT

I. Allgemeines zur radiologisch-zytostatischen Kombinations- behandlung	4
II. Zielsetzung der eigenen Experimente	7
III. Allgemeines über die eigenen Versuchsanordnungen	8
A. Die verwendeten Zytostatika und deren Applikation	8
B. Tiermaterial und Tierhaltung	11
C. Bestrahlungsanlage	11
D. Statistische Methoden	12
IV. Spezielle Versuchsanordnungen	13
A. Methodik zur Bestimmung des Verhaltens des Hodengewich- tes von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiolo- gisch-zytostatischer Behandlung	13
B. Methodik zur Bestimmung der Schwanzlänge infantiler Mäuse nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung	14
C. Methodik zur Bestimmung der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach zytostatischer und kombi- niert radiologisch-zytostatischer Behandlung	17
V. Eigene Versuche und Ergebnisse	19
A. Vorversuch zur Überprüfung der DL 50 von Endoxan, Natu- lan, Proresid und 5-Fluoruracil	19
B. Beobachtungen über das Verhalten des relativen Hodenge- wichtes von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung	21
C. Beobachtungen über das Verhalten des absoluten Schwanz- längenzuwachses infantiler Mäuse nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung	27
D. Beobachtungen über die Verzögerung der Abheilungsgeschwin- digkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung	33
E. Beobachtungen über das Verhalten des Körpergewichtes und der Absterbequoten in den Hoden-, Schwanz- und Ohren- versuchen	37
VI. Diskussion	41
VII. Zusammenfassung	43
VIII. Literaturverzeichnis	44

I. Allgemeines zur radiologisch-physikalischen Untersuchung	1
II. Bedeutung der eigenen Experimente	7
III. Allgemeines über die eigenen Versuchsanordnungen	8
A. Die verschiedenen Versuchsaufbauten und deren Bedeutung	9
B. Temperatur- und Feuchtigkeit	11
C. Röntgenstrahlung	11
D. Elektrische Messungen	12
IV. Spezielle Versuchsanordnungen	13
A. Methode zur Bestimmung des Zeitraumes der Halbwertszeit des von Mischungen radioaktiver und nichtradioaktiver Substanzen	13
B. Methode zur Bestimmung der Schwächungskoeffizienten nach experimenteller und berechneter radiologisch-physikalischer Bestimmung	14
C. Methode zur Bestimmung der Ausbreitungswahrscheinlichkeit von Radioaktivität von Mischungen aus radioaktiven und nicht- radioaktiven Substanzen	17
D. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	19
E. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	21
F. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	23
G. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	25
H. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	27
I. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	29
J. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	31
K. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	33
L. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	35
M. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	37
N. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	39
O. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	41
P. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	43
Q. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	45
R. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	47
S. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	49
T. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	51
U. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	53
V. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	55
W. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	57
X. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	59
Y. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	61
Z. Methode zur Bestimmung der Halbwertszeit von Mischungen aus radioaktiven und nichtradioaktiven Substanzen	63

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Experimente zu radiologisch-chemotherapeutischer

Synzytostase.

I. Allgemeines zur radiologisch-zytostatischen Kombinationsbehandlung.

Zusammenfassende Übersichtsarbeiten hierzu haben BANE et al. (1957), KLIGERMAN (1960, 1965), PAPAC (1962), HODNETT (1963), MAISIN (1963), BARTH et al. (1966), RAVENTOS (1966) und RINGLEB (1967) vorgelegt. Im Prinzip wären zwei Möglichkeiten zur Verbesserung der therapeutischen Effekte gegenüber rein radiologischer Behandlung denkbar, nämlich zum einen die örtliche Geschwulstbeeinflussung durch zusätzliche medikamentöse Einwirkung auf den bestrahlten Tumor, und zum anderen die Verbesserung der Heilungsquoten durch cancertoxische Beeinträchtigung von Fernmetastasen, nachdem das primäre Malignom durch lokale Bestrahlung beseitigt ist. Nach FLETCHER et al. (1963), HOWE et al. (1964) sowie RINGLEB (1967) sei der Radiologe wenig geneigt, der ersteren Möglichkeit klinische Bedeutung zuzusprechen, denn gleichzeitige zytostatische Medikation senkt auch die Strahlentoleranzgrenze der normalen Tumorumgebung und führt dazu, daß lokale Strahlendosis bei der Kombinationsbehandlung eingespart werden muß, nicht etwa nur eingespart werden kann. Nach RINGLEB (1967) erschiene eine radiologisch-zytostatische Kombinationsbehandlung in der Klinik dann sinnvoll, "wenn die Strahlenbehandlung allein zu unbefriedigenden Ergebnissen zu führen droht, da Fernmetastasen nach Befund oder klinischer Erfahrung bereits anzunehmen sind, und sich nach histologischem Befund oder beobachteter Strahlenempfindlichkeit ein Ansprechen auf chemotherapeutische Zusatzbehandlung erwarten läßt, und noch kein Marasmus besteht". Zu einem "therapeutischen Synergismus" von Zytostatika und ionisierenden Strahlen wäre es im Sinne KLIGERMANs (1965) erforderlich, daß unerwünschte Additionen von "Neben"-Erscheinungen überkompensiert würden durch proportional stärkere Tumorhemmeffekte, daß also eine "differenzierte Sensibilisierung" statthätte. Nach RINGLEB (1967) sei radiologisch-zytostatische Synkarzinolyse bislang "nur möglich im Rahmen einer Synzytostase", da nicht nur maligne, sondern auch normale Gewebe kombiniert beeinträchtigt werden.

Weil es bei der kombinierten Anwendung von Zytostatika und ionisierenden Strahlen auch zur Summation unerwünschter Nebenwirkungen kommen könne, wird von BARTH et al. (1966) gefordert, daß "die Einsatzmöglichkeiten der Zytostatika sich nach dem Grad der Erträglichkeit der Strahlenbehandlung richten" müßten. Aus der Elektivität der Strahlen- wie zytostatischen Wirkungen auf Proliferationsgewebe ergeben sich dabei die Probleme: Daß hämatologische Komplikationen zu erwarten sind, sei "allgemein bekannt und werde in der Klinik beherzigt". Weniger werde daran gedacht, "daß kombinierte Behandlung zu einer stark erhöhten Gefährdung der Kranken durch iatrogene Enterocolitis und Cystitis führt; diese Erscheinungen können durchaus zum Exitus führen." "Es muß bedacht werden, daß die Gonaden bei Bestrahlung im Abdominalbereich von beachtlichen Streudosen betroffen werden, wonach zytostatische Behandlung die morphologischen Veränderungen u. U. bis zur Sterilität treiben könnte".

RINGLEB (1967) konnte experimentell nachweisen, daß die kombinierte Anwendung von lokaler Röntgenbestrahlung und allgemeiner (intraperitonealer) Medikation das Alkylans Endoxan zu positiven Kumulationseffekten bezüglich der Reduktion des Hodengewichtes erwachsener und des Schwanzlängenzuwachses infantiler Mäuse wie der Hemmung der Abheilungszeit von Stanzlöchern in Mäuseohren führt. Er schloß, daß damit synzytostatische Effekte an hämatopoetischen, germinativen, jugendlichen und granulativen Proliferationsgeweben für die Kombination Röntgenstrahlen plus Endoxan bewiesen seien, auch Kumulation der Beeinträchtigung des Gefäß-Bindegewebes-Apparates.

Werden die beiden Agentien ionisierende Strahlung und Zytostatika miteinander kombiniert, könnten sie sich in der Entfaltung ihrer Wirkungen beeinträchtigen, damit antagonistisch wirken, so daß der Kombinationseffekt geringer wird als jeder Einzeleffekt. Kumulieren sich die Einzeleffekte, sind zwei verschiedene Mechanismen denkbar: Einmal Addition oder Subaddition, wenn der Kumulationseffekt der Summe oder nahezu der Summe der Einzeleffekte entspricht, zum anderen Synergismus, wenn der Endeffekt größer ist als die Summe der Einzeleffekte, wobei die Kombination zweier, jedes für sich wirksamer Agentien als Potenzierung zu bezeichnen wäre, die Kombination eines aktiven mit einem inaktiven Agens als Sensibilisierung. Diese Begriffsbestimmung wird von SARTORELLI (1965)

übernommen. Nach UEHLEKE kann für Potenzierung auch superadditive Summation gesetzt werden.

II. Zielsetzung der eigenen Experimente.

Die vorerwähnten Experimente von RINGLEB (1967) wurden nur mit Endoxan angestellt. Unsere Aufgabe war es, die wichtigsten seiner Versuche mit anderen Zytostatika zu wiederholen und die zu erbringenden Ergebnisse zu interpretieren. Es sollte der Effekt einer kombinierten Behandlung mit lokaler Röntgenbestrahlung und allgemeiner intraperitonealer Medikation von mehreren Zytostatika an erwachsenen weißen Mäusen auf deren Hodengewicht und die Abheilungszeit von Ohrstanzlöchern untersucht werden wie auch auf das Schwanzlängenwachstum infantiler Mäuse. Damit erstreckt sich die Untersuchung auf ein germinatives, ein jugendliches und ein granulatives Proliferationsgewebe.

An Zytostatika sollten solche ausgesucht werden, die in der Klinik bei radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung derzeit eine Rolle spielen. Dies schien uns zuzutreffen für das Alkylans Natulan, das Antimitotikum Proresid und den Antimetaboliten 5-Fluoruracil.

III. Allgemeines über die eigenen Versuchsanordnungen.

A. Die verwendeten Zytostatica und deren Applikation.

Wir standen vor der Frage, ob die chemischen Bezeichnungen bzw. die chemischen Kurzformeln der verwendeten Substanzen in dieser Arbeit regelmäßig Verwendung finden sollten, oder einfach ihre Markennamen. Wir haben uns zum letzteren entschlossen, da Markennamen dem Arzt wesentlich geläufiger sind als die exakten chemischen Bezeichnungen. Das von uns zu erarbeitende Tatsachewissen sollte jedem interessierten Kliniker ohne nomenklatorische Schwierigkeiten zugänglich sein.

1. Endoxan

Endoxan, N,N'-Bis(β -chloräthyl)-N-O-Propylenphosphorsäureesterdiamid, ist ein cyclischer Phosphamidester des NH-Losts (ARNOLD et al.). Das Molekül ist chemisch sehr stabil und in vitro zytostatisch inaktiv. Es wird erst im Organismus von der inaktiven Transportform zur Wirkform (DRUCKREY et al. 1952) aktiviert. Entgegen den ursprünglichen Hypothesen (BROCK et al. 1958) beruht die Aktivierung nicht auf einer hydrolytischen Spaltung der P-N-Bindung. Vielmehr wird der Aktivierungsmechanismus zumindest in der ersten Reaktionsstufe einer mehrstufigen Reaktionsfolge durch einen Oxydationsprozeß eingeleitet, der vorwiegend an den Lebermikrosomen in Gegenwart von O_2 und TPNH abläuft (BROCK et al. 1963). Nach WILMANNS et al. ist das Ausmaß des Metabolismus von Endoxan nach Inkubation von Leber- und Nierenschnitten größer als bei Verwendung von Tumorzellhomogenaten. Nach BOLT et al. verteilt sich die Aktivität von im Ring markiertem Endoxan gleichmäßig über den Körper, bei in der N-Lost-Gruppe markiertem dagegen finden sich bis 240 % der Aktivität von ruhendem Normalgewebe in Proliferations- und malignen Geweben.

2. Natulan

Nach WEITZEL et al. nehmen zytostatisch wirksame Methylhydrazine Aminomethylierungen durch die gebildeten Azomethin-N-N-Hydroxymethylderivate sowie Hydroxymethylierungen durch freigesetzten Formaldehyd vor. Als tumorhemmende Verbindungsklasse hätten sie insofern eine Sonderstellung unter den Alkylantien, als sie im Zellstoffwechsel zugleich oxydierend wirken. Die zytostatische Aktivität der Methylhydrazine wurde 1963 von ZELLER et al. wie BOLLAG et al. bemerkt. BERNEIS et al. fanden, daß die Substanzen unter aeroben Bedingungen einen Viskositätsabfall von DNS-Lösungen bedingen, RUTISHAUSER et al., daß die Mitoseindices zugunsten der Metaphase verschoben werden, und Chromatidbrüche entstehen, was radiomimetische Eigenschaften wären. GERHARTZ, MARTZ, MATHÉ et al. wie D'ALESSANDRI et al. berichteten 1963/64 über befriedigende klinische Ergebnisse. Seitdem ist das Natulan als eine Mischung aus p-(N'-Methyl-hydrazinmethyl)-N-isopropylbenzamid und p-(N'-Methyl-hydrazinmethyl)-N-isopropylbenzamid-hydrochlorid in die Klinik zur Behandlung der Lymphogranulomatose und anderer maligner lymphatischer und retikulärer Erkrankungen eingeführt.

3. Proresid

Diese Substanz ist ein Antimitotikum. Nach von LEVINE (1951) durchgeführten Kombinationsbehandlungen mit dem altbekannten Antimitotikum Colchizin an Pflanzen-, Tier- und menschlichem Gewebe kam es teils zu geringeren, teils zu höheren Zellteilungsraten als nach der Bestrahlung allein. ROTHE et al. wie W.W.SMITH et al. (1962, 1963) sahen antagonistische Effekte des Colchizins bezüglich der Letalität nach Ganzkörperbestrahlung. NALKINSON et al. (1961) wie WISKEMANN (1966) stellten fest, daß bei Kombinationsbehandlung mit Spindelgiften gesehene additive Effekte nur in bemerkenswerter Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Medikation derselben im Verhältnis zum Bestrahlungszeitpunkt auftreten.

Das in Ampullenform vorliegende Proresid - nur das wurde von uns verwandt - enthält als partialsynthetische Substanz aus Podophyllum emodi, einer Berberidaceen-Art, Podophyllinsäure-äthylhydrazid. Schon 1861 war von BENTLEY die wachstumshemmende Wirkung von Podophyllin erkannt worden. KAPLAN machte 1942 auf diese erneut aufmerksam. BELKIN (1947), HARTWELL et al. (1947) waren unseres Wissens die Ersten, die damit Experimentaltumoren angingen. Letztere Forschergruppe (s. HARTWELL et al. 1950, 1951, SCHRECKER et al. 1953-1955) hat sich später um die Strukturabklärung der einzelnen Bestandteile des Podophyllins verdient gemacht. RUTSCHMANN et al. gelang 1959 die Öffnung des Laktonringes des Podophyllotoxins und die Darstellung von Derivaten der Podophyllinsäure, vor allem von Säurehydraziden. Proresid arretiert Mitosen in der Metaphase, beeinflusst den energieliefernden Stoffwechsel nach Untersuchungen in der Warburgapparatur nicht, hemmt jedoch das Wachstum verschiedener Experimentaltumoren (STÄHELIN et al.). Klinische Erfahrungsberichte über die Verwendung des Proresid als Cytostatikum sind zahlreich (s. LETTRÈ et al.). HUBACHER (1965) kommt das besondere Verdienst zu, an einem ausgedehnten Krankennmaterial durch statistisch wohl geplante Untersuchungen gezeigt zu haben, daß radiologisch-zytostatische Kombinationsbehandlung mit Proresid zu wesentlicher Steigerung der Heilungsziffern gegenüber alleiniger radiologischer Behandlung führt.

4. 5-Fluoruracil

Diese Substanz haben wir als Prototyp eines Antimetaboliten verwendet. Nach den Arbeiten von LOWRY, SARTORELLI et al., DELIHAS et al., HUTCHINSON, DJORJEVIC, HUMPHREY et al., ERIKSON et al., GITLIN et al., BERRY et al. (1962, 1964), KLIGERMANN et al., MARTIN et al., GHYS et al., LOKEN et al., wie BOLLAG sollte man meinen, daß durch die kombinierte Strahlen-Antimetaboliten-Behandlung Heilungsmöglichkeiten von Impftumoren noch am ehesten bestehen, allerdings auch nur im Rahmen einer Synzytostase. Die klinischen Berichte (s. RINGLEB 1967) über kombinierte Strahlen-Antimetaboliten-Behandlung beim Menschen lassen erkennen, daß bei der Kombinationsbehandlung Strahlendosen eingespart werden müssen, da auch die Strahlentoleranzgrenze der normalen Tumorumgebung gesenkt wird (FLETCHER et al., HOWE et al.).

5-Fluoruracil (5-FU) ist ein Pyrimidinantagonist und greift als solcher in den Nukleinsäurestoffwechsel ein. Es wurde von DUSCHINSKY et al. (1957) erstmals synthetisiert. Erste Laboratoriumsberichte über Tumورهemmung und Toxizität stammen aus dem gleichen Jahr von HEIDELBERGER et al. (1957 a+b). Eine kli-

nische Übersicht über 594 mit 5-FU behandelte Krebspatienten geben BRENNAN et al. (1964), eine biochemische HEIDELBERGER (1964).

5. Die therapeutische Einheit (TE)

Der Vergleich der onkolytischen Aktivität verschiedener Cytostatika untereinander erfolgt nach einem Vorschlag von DRUCKREY et al. (1963) nicht mehr, wie bislang üblich, mit Hilfe des "therapeutischen Index" ($DL_5: DC_{95}$), sondern mit Hilfe der "therapeutischen Einheit" (TE). 1 TE = 1 % der DL_{50} . DL_{50} für Mäuse beträgt bei intraperitonealer Applikation für Endoxan nach LANE 300 mg/kg (1 TE = 3 mg/kg). Für Natulan gab die Herstellerfirma (Hoffmann - La Roche AG, Basel) 580 mg/kg an (1 TE = 5,8 mg/kg). Für Proresid (Podophyllinsäure-methylhydrazid) lautete die Angabe der Herstellerfirma (Sandoz AG, Basel) auf 280 mg/kg, für 5-FU (Hoffmann - La Roche AG, Basel) 188 mg/kg (1 TE = 1,88 mg/kg). In einem Vorversuch (s. V.A.) haben wir diese Zahlen als für unsere Zwecke hinreichend genau überprüft.

6. Intraperitoneale Applikation der Zytostatika.

Die Stammlösungen aus den Originalampullen der drei Zytostatika wurden mit phys. NaCl so verdünnt, daß die für das einzelne Tier nach dessen Körpergewicht notwendige Menge an Substanz in 0,2 ml für adulte, 0,05 ml für infantile Mäuse zur Verfügung stand. Dabei wurde als Hilfsmittel das in Abbildung 1 dargestellte Diagramm benutzt.

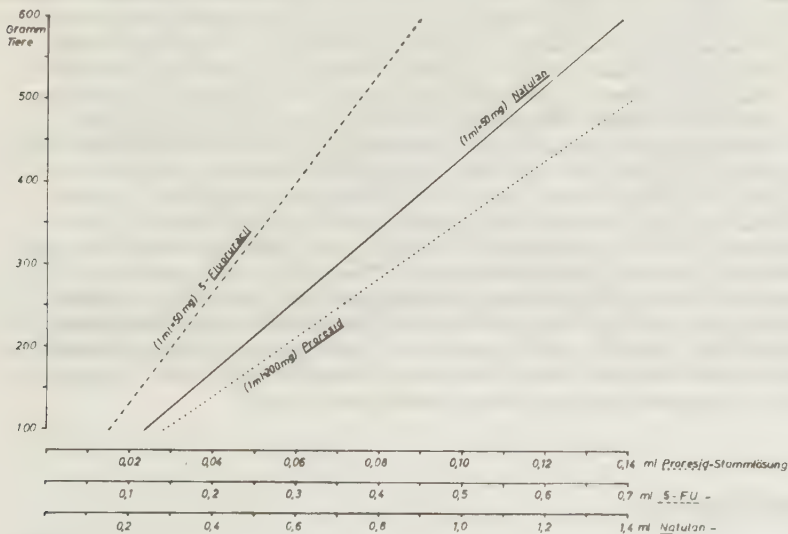


Abb. 1:

- I. Aus dem Diagramm geht hervor, wieviel ml aus einer Originalampulle an Stammlösung zur Herstellung einer 20 TE-Lösung für das Gesamtgewicht einer Tiergruppe in einer Tuberkulinspritze aufgezogen werden müssen.
- II. Diese Menge wird mit phys. Na Cl verdünnt auf (Tierzahl x 0,2) ml für erwachsene oder (Tierzahl x 0,05) ml für infantile Tiere.

zu Abb. 1:

III. Dann befinden sich in 0,2 (0,05) ml 20 TE für das Einzeltier.

IV. 1 ml dieser 20 TE-Lösung verdünnt mit 0,5 ml phys. Na Cl ergibt eine 13,3 TE-Lösung, verdünnt mit 1 ml phys. Na Cl-Lösung eine 10 TE-Lösung, mit 1,5 ml eine 8 TE-Lösung, mit 2 ml eine 6,6 TE-Lösung, wobei immer in 0,2 (0,05) ml sich die Dosis für das Einzeltier befindet.

Die Flüssigkeitsmengen wurden aus Tuberkulinspritzen mit Intrakutannadeln injiziert. Um zu gewährleisten, daß beobachtete Effekte nicht mit auf den Einfluß des Injektionstraumas zurückzuführen wären, wurden "unbehandelte Kontrollen" und "nur bestrahlte Tiere" jeweils an den Tagen, an denen bei entsprechenden Parallelversuchen in Kombinationsbehandlungsgruppen intraperitoneale Injektionen durchgeführt wurden, 0,2 bzw. 0,05 ml phys. Na Cl injiziert. Bei simultaner Kombinationsbehandlung wurden die Zytostatika 30 bis 60 min nach der Bestrahlung gegeben.

B. Tiermaterial und Tierhaltung

Es wurden männliche NMRI-Mäuse aus einem Gruppeninzuchtstamm der Tierzuchtanstalt Ivanovas, Kisslegg/Allgäu bezogen.

Die Tiergewichte betrugen bei Anlieferung 18 ± 2 g. Zur Akklimatisierung wurden die Tiere gehalten, bis sie 21 bis 24 g wogen. Haltung von jeweils 10 bis 15 Mäusen in Makrolon-Käfigen, Typ 3 (JUNG) mit Deckeln aus verzinktem Stahl-draht. Die Einstreu bestand aus Hobelspänen; zweimal wöchentlich wurden die Tiere in frische Kästen umgesetzt. Ernährung mit "Sniff"-Trockenmischfutter (Futtermühle Plange, Soest/Westf.) aus entsprechenden Vertiefungen der Käfigdeckel. Wasser ad libitum aus Plastiktrinkflaschen. Um Epidemien vorzubeugen, wurden die Kästen zweimal wöchentlich, die Käfigdeckel einmal wöchentlich in 1%iger Trichlorollösung gewaschen und sterilisiert, die Plastiktrinkflaschen und Trinkröhrchen bei jedem Wechsel mit 0,1%iger Trichlorollösung keimfrei gemacht. Dem Trinkwasser wurde stets 0,005 % Chloramin zugesetzt. Pinzetten, Gummihandschuhe etc. wurden mit 0,5%iger Zephirol-Lösung behandelt. Der Tierstall durfte nur in entsprechender Arbeitskleidung betreten werden. Die Hände vor und nach jedem Hantieren mit Tieren mit Tego gewaschen. Durch thermostatische Kontrolle wurde die Lufttemperatur im Tierstall auf konstant 22° bis 25° gehalten. Die Kennzeichnung der Tiere erfolgte mit Karbolfuchsin an Extremitäten, Kopfmitte und Schwanzwurzel. Behandlung und Bestrahlungen erfolgten nachmittags oder abends, um einen eventuellen Einfluß der Tagesperiodik auf die Versuchsergebnisse einzuschränken (ASCHOFF).

C. Bestrahlungsanlage

Verwandt wurde eine Tierbestrahlungsapparatur, die nach Angaben von BARTH et al. (1964) aus einer Materialprüfanlage MG 150 der Firma C.H.F.Müller, Hamburg, durch Umbau des Tubusaufsatzes und Anbringung einer zweiten Röhre

mit hoher Dosisleistung für experimentelle Untersuchungen aller Art hergerichtet ist. Die erste Röhre MöD 150 Be kann von 55 bis 150 KV geschaltet werden, liefert bei Halbwertschichten von 0,57 mmAl bis 0,7 mm Cu Dosisleistungen in 30 cm Fokusabstand von 127 bis 67 R/'. Die zweite Röhre FA 100/25 leistet zwischen 25 und 100 kV bei entsprechender Filterung bei Halbwertschichten von 0,07 mmAl bis 2,3 mmAl 1280 bis 300 R/min in gleichem Abstand. Durch eine in den Röhrenstromkreis geschaltete Dosisintegrationsvorrichtung wird der Röhrenstrom automatisch abgeschaltet, sobald eine gewünschte Dosis in einer Mikroschlauchkammer (Faktor 1) erreicht wird.

D. Statistische Methoden

Der Vergleich zweier Prozentsätze von Ereignissen erfolgt im t-Test nach der Formel

$$t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{\frac{p_1 \cdot (100-p_1)}{N_1} + \frac{p_2 \cdot (100-p_2)}{N_2}}}$$

wobei N_1 und N_2 = Anzahl der Meßwerte, p_1 und p_2 = Prozentsätze.

Für die Berechnung von Varianzen von Meßwerten um einen Mittelwert galt

$$s^2 = \frac{S(x_i)^2 - \frac{(S x_i)^2}{N}}{N-1}$$

wobei N = Anzahl der Meßwerte, x_i = Einzelmeßwerte. Der Vergleich zweier Mittelwerte von Meßwerten über den t-Test erfolgt nach

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

wobei $\bar{x}_1$ und $\bar{x}_2$ = zu vergleichende Meßwerte (Mittelwerte), s_1^2 und s_2^2 = zugehörige Varianzen, N_1 und N_2 = Anzahl der Versuche sind. Der 95%-Vertrauensbereich ergab sich nach ($s \times t$).

IV. Spezielle Versuchsanordnungen.

A. Methodik zur Bestimmung des Verhaltens des Hodengewichtes von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung.

In der aus unserem Arbeitskreis hervorgegangenen Dissertation von E. SCHNEIDER (1967) wurde eingehend über die heutige Auffassung vom Histomechanismus der strahlenbedingten Hodendepopulation, die Möglichkeit, das Hodengewicht als objektives Maß zur Prüfung direkter Strahlenschäden einzusetzen, sowie über die Wirkung zytostatischer Substanzen auf männliches Keimgewicht referiert. Auf diese Arbeit darf hingewiesen werden. Hinzuzufügen bleibt, daß aus den Laboratorien der Sandoz AG über Hemmung der Spermiogenese durch Proresid berichtet wurde.

Die Bestrahlungsanordnung wurde von E. SCHNEIDER übernommen. Röhre MÖD 150 Be, 150 kV, 15 mA, Filter 0,5 mm Cu, HWS 0,65 mm Cu, Tubus 2,5 cm $\varnothing$ in FHA 15 cm. Die Dosisleistung betrug in 15 cm FHA 320 R/min.

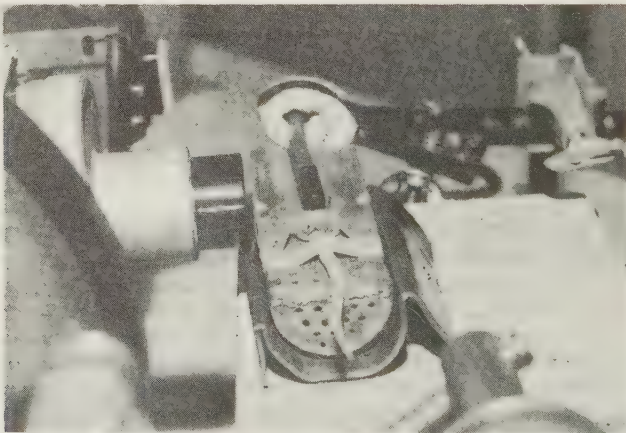


Abb. 2:

Anordnung zur gezielten Bestrahlung der Testes von caudal gesehen.

Zur Bestrahlung kamen die Mäusemännchen (ohne Narkose) in einen halbröhrenförmigen Zinkblechkäfig aus zwei zusammenschiebbaren Teilen mit Ausschnitten an der planen Ventralseite. Durch die beim Zusammenstecken der Käfigteile entstehende ovale Öffnung wurden Skrotum, Penis und Schwanz nach außen verlagert. Ein Zurückgleiten der Hoden in das Käfiginnere war dadurch unmöglich gemacht, daß das äußere Genitale durch leichtes Einklemmen der Wurzel des Skrotums am Öffnungsrand fixiert und der Schwanz mit Leukoplast außen am Käfig befestigt war. Der auf diese Art mit den Mäusemännchen beschickte Käfig wurde

mit der Ventralseite nach oben in ein muldenförmiges Bleilager so eingepaßt, daß dessen Kante mit der Ventralseite des Käfig kongruent war, und das herausragende Skrotum freilag. Auf das Skrotum wurde die Mikroschlauchkammer des Simplex-Dosimeters gelegt. An die Bleiwand wurde der Tubus so angelegt, daß der Zentralstrahl zwischen Skrotum und Kammer verlief. Um eine homogene Dosisauslastung zu erzielen, wurde die jeweils gewünschte Strahlendosis je zur Hälfte von links und rechts appliziert, indem der Käfig nach der halben Bestrahlungszeit um 180° gedreht wurde. Sinn dieser Anordnung war es, durch streng tangential Ausrichtung des Strahlenbündels das äußere Genitale allein zu bestrahlen, den übrigen Tierkörper unbestrahlt zu lassen. Nach den Messungen von PFEIFF (1965) wie denen von E.SCHNEIDER (1967) darf angenommen werden, daß dies gelang.

E.SCHNEIDER (1967) fand den 20. Tag nach Beginn der Strahlen- bzw. der kombinierten Behandlung als für die Tötung der Tiere und die anschließende Wägung der Testes am günstigsten. Bei der Wägung wurden die von ihm angegebenen Kriterien eingehalten. E.SCHNEIDER (1967) konnte auch die von KOHN et al. (1954, 1955) schon bekannten Tatsachen bestätigen, daß Hodengewicht und Körpergewicht relativierte Größen sind, so daß zu statistischer Auswertung optimal die relativen Hodengewichte in mg/g herangezogen werden sollten. Er stellte fest, daß bei im 48-Stunden-Rhythmus fraktionierter, gleichzeitiger Applikation von Röntgenstrahlen und Endoxan in Tagesdosen von 20 bis 40 R und 30 mg/kg (= 10 TE) die relativen Hodengewichte von Mäusen einem Subadditions- bis Additionsmechanismus folgend abnehmen.

Wir werden unsere mit alleiniger und kombinierter Behandlung mit Natulan, Proresid und 5-FU erzielten Retentionen der mittleren relativen Hodengewichte mit denen vergleichen, die E.SCHNEIDER (1967) durch alleinige fraktionierte Bestrahlung, fraktionierte alleinige und kombinierte Endoxanbehandlung erzielen konnte. Deswegen benutzen wir unsere drei Zytostatika in gleichen TE-Mengen wie E. SCHNEIDER (1967) (3,3 TE, 6,6 TE, 10 TE, 13,3 TE).

B. Methodik zur Bestimmung der Schwanzlänge infantiler Mäuser nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung.

Seit PERTHES (1903) ist der hemmende Einfluß von Röntgenstrahlen auf das Skelettwachstum bekannt. Die letzten kritischen Übersichten darüber erschienen im deutschsprachigen Schrifttum von GAUWERKY, WACHTLER, HORVARTH wie RAUSCH et al. (1964). WRIGHT et al. berichteten 1956 über dosisabhängige Be-

ziehungen der Hemmung des Wachstums bestrahlter infantiler Mäuseschwänze. RAUSCH et al. (1966) wie aus derselben Arbeitsgruppe ANDER haben das Modell als für strahlenbiologische Fragestellungen brauchbar gefunden. Nach allgemeiner Ansicht ist die strahlenbedingte Wachstumshemmung auf eine Beeinflussung der Epiphysenknorpel der 27 bis 32 Wirbel des Mäuseschwanzes, von denen 3 bis 4 noch am Körperstamm liegen, zurückzuführen. RINGLEB (1967) hat bei Kombination lokaler Bestrahlung infantiler Mäuseschwänze mit Ganzkörpermedikation mittels Endoxan an diesen jugendlichen Proliferationsgeweben Kombinationseffekte gesehen, die in Abhängigkeit von der absoluten Höhe der Dosen beider Agentien und in ihrem Verhältnis zueinander superadditiven bis subadditiven Charakter trugen, u.U. so minimal wurden, daß sie sich der Nachweisbarkeit am biologischen Objekt entzogen. Am ehesten sicherbar waren seine Ergebnisse bei einer Strahlendosis von 1000 R kombiniert mit 5×10 mg/kg (3,3 TE) und 5×40 mg/kg (13,3 TE) Endoxan. Er meint, die von ihm nachgewiesene Kombinationsschädigungsmöglichkeit der Epiphysenfuge gelte mit hoher Wahrscheinlichkeit auch für die Human-klinik.

Unsere Versuchsanordnung entsprach der durch RAUSCH et al. (1966) und ANDER inaugurierten von RINGLEB (1967). In einem speziellen Bestrahlungskäfig aus Plexiglas konnten 9 infantile Mäuse so untergebracht werden, daß der Körper durch mehrere mm Bleiauflage strahlengeschützt war, während die Schwänze auf einer ungeschützten zentralen Platte aus Bleiplaster von 6 cm Durchmesser geklebt wurden.

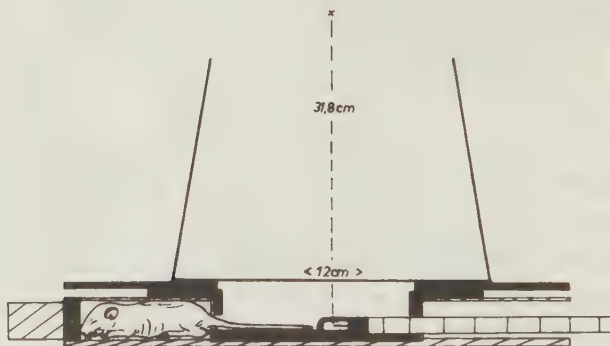


Abb. 3: Anordnung zur Ganzschwanzbestrahlung infantiler Mäuse.

Es ist die Position der Meßkammer zu der auf einer Bleiplasterplatte leicht aufgeklebten Schwänze ersichtlich. Die Tierkörper sind gegenüber der Platte durch einen senkrecht stehenden, zirkulär verlaufenden Bleistreifen geschützt.

Die proximalen 2 mm der Schwänze befanden sich im Schutz eines zirkulär angeordneten Bleistreifens, der 10 Ausschnitte enthielt, durch die die neun Schwänze

und die Normalkammer der Dosisintegrationseinrichtung geschoben wurden. Letztere wurde in der Mitte der zentralen Klebeplatte so angeordnet, daß sich die Kammermitte in Höhe der Schwänze befand. Röhre MÖD 150, 85 kV, HWS 1,7 mm Al, Fokus 32 cm oberhalb der Schwanzmitten, Dosierung mitmessend. Die Schwanzlängen wurden mit Hilfe eines gradierten Plexiglasröhrchens gemessen, das nur bis an den Schwanzhaaransatz vorgeschoben wurde, da die ersten 2 mm des Schwanzes von der Strahlung geschützt waren.

ANDER hatte bereits gefunden, daß die Schwanzlängenrückstände bestrahlter Schwänze in Prozent des mittleren Schwanzlängenzuwachses unbestrahlter Kontrollen sich besser zur statistischen Diskussion eigneten als die Differenzen der absoluten Schwanzlängen zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren, da ersteres Kriterium bei unbestrahlten Tieren die geringste Streuung um den Mittelwert aufwies. Nach RINGLEB (1967) nimmt das Körpergewicht jugendlicher Mäuse im cm-g-System schneller zu als die Schwanzlänge, wodurch die relative Schwanzlänge in cm/g mit zunehmendem Alter abnimmt. Die Streubreiten der mittleren absoluten Schwanzlängen nehmen mit zunehmendem Alter kontinuierlich ab, während die Streubreite des mittleren Körpergewichts und entsprechend auch die der mittleren relativen Schwanzlänge erhalten bleibt. Die mittlere absolute Schwanzlänge wäre demnach ein verlässlicherer Altersindikator als das Körpergewicht, und es kämen für vergleichende statistische Berechnungen absolute Schwanzlängenwerte wegen ihrer geringen Streubreite eher infrage als relative. Nach RINGLEB (1967) wird die absolute Schwanzlänge in Abhängigkeit von der Dosis gehemmt, während der Körpergewichtsverlauf nach alleiniger Schwanzbestrahlung keine derartige Abhängigkeit zeigt. Andererseits wird durch zytostatische Behandlung der Körpergewichtszuwachs gehemmt, und zwar im cm-g-System deutlicher als der der absoluten Schwanzlänge. Die Änderung relativer Schwanzlängen bekommt dadurch in Bestrahlungsversuchen ein anderes Vorzeichen als in zytostatischen Versuchen. Deshalb können die Überlegungen über die Schwanzlängenzuwächse sich nicht auf relative Werte stützen, wie es bei Auswertung der Versuche über die Reaktion des Hodengewichtes richtig schien.

Nach dem Vorgehen von RINGLEB (1967) begannen wir mit der lokalen Strahlen-, intraperitonealen zytostatischen oder kombinierten Behandlung, sobald die Tiere eines auf 10 Stück normierten Wurfes zwischen dem 7. und 14. Tag nach der Geburt ein Körpergewicht von 6 g (5,7 bis 6,5 g) aufwiesen. Davon wurden 7 behan-

delt und 3 als Kontrollen belassen. Die absoluten Schwanzlängen wurden vom Behandlungstage an 10, 20, 30 Tage später festgestellt. Statistische Überlegungen wurden am 30. Tag angestellt, da vorher die Differenzen geringer sind, später nicht mehr zunehmen, und die Tiere dann als erwachsen gelten dürfen (JUNG 1962).

C. Methodik zur Bestimmung der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung.

HEITE (1955) et al. (1956) haben gezeigt, wie sich mittels Verfolgung der Abheilung eines Stanzloches im Kaninchenohr die gewebsschädigende Wirkung einer Bestrahlung quantitativ und vergleichend erfassen läßt. RAUSCH (1961, 1962 a+b) erwieß sich dieses Modell zur Bearbeitung strahlenbiologischer Fragestellungen als brauchbar. RAUSCH (1965) lochte dann auch Mäuseohren, konnte damit in seiner Arbeitsgruppe gleichfalls quantitativ-vergleichend arbeiten (ANDER 1966, RAUSCH et al. 1966). Von Untersuchungen von HOPPE (1962), KARRER (1963) und SCHAUDIG (1962) her ist bekannt, daß Zytostatika prinzipiell die Ausbildung von Granulationsgewebe hemmen können, wie dies für ionisierende Strahlen COTTIER (1966) in seinem Handbuchartikel beschreibt. RINGLEB (1967) hat nachweisen können, daß die Wundheilung in gestanzten Mäuseohren sowohl nach einzeltägiger Bestrahlung als auch bei täglicher Medikation von 25 mg/kg (= 8 TE) Endoxan verlangsamt verläuft, und daß die Stanzlöcher bei kombinierter Behandlung mit 1000 R einzeltägig am Ohr + 8 TE Endoxan täglich gegenüber alleiniger Bestrahlung und alleiniger Endoxanbehandlung weiter verzögert wird, glaubt damit, einen kumulativen Effekt bezüglich der Behinderung der Proliferationsaktivität von Bindegewebe und Hautepithel nachgewiesen zu haben.

Die eigene Versuchsanordnung folgte RINGLEB (1967). Aus einem Drahtkäfig herausragende Ohren von weiblichen Mäusen wurden mit einer Silberstahlstanze gegen eine Unterlage aus Holz in ihrer Mitte unter Vermeidung des Anstechens großer Gefäße gelocht. Zur Bestrahlung wurde das herausragende rechte Ohr auf Leukoplast aufgedrückt. Dieses an einem Glastubus von 1 cm Durchmesser so fixiert, daß es ganz ausgestrahlt wird. Röhre FA 100/25, 30 kV, 25 mA, 0,3 mm Al Filter, HWS 0,2 mm Al, FHA 10 cm, Dosisleistung 2205 R/min.

Bestrahlungszeit für 1000 R Oberflächendosis 27,5 sec. Vom Bestrahlungstage an bis maximal zum 31. Tag nach der Stanzung wurden täglich 8 TE der drei verwendeten Zytostatika gegeben. Zur Feststellung der Abheilung beider Ohrlöcher wurden die Tiere täglich kontrolliert, protokolliert und dabei die Größe der Stanzlöcher gegen durchfallendes Licht ohne Zuhilfenahme einer Lupe beurteilt.

Wir unterschieden drei Stadien: I. Das Stanzloch hat seine ursprüngliche Größe oder ist größer. - II. Das Stanzloch ist deutlich kleiner geworden. - III. Es fällt kein Licht mehr an der Stanzstelle durch.

V. Eigene Versuche und Ergebnisse.

A. Vorversuch zur Überprüfung der DL 50 von Endoxan, Natulan, Proresid und 5-Fluoruracil.

Tabelle 1 zeigt die Überlebensrate von je 75 Tieren, denen je 1 DL 50 nach Angaben aus der Literatur bzw. der Firmen in 0,25 ml phys. NaCl i.p. einmalig gegeben wurde, im Vergleich zu einer Kontrollgruppe von 50 Tieren, die nur phys. NaCl erhielten. 24 Stunden später waren in der Kontrollgruppe 2 % der Tiere verendet, in den 4 Versuchsgruppen 30 bis 50 %. Vom 10. bis 30. Tag nach der Injektion gleichen sich die Überlebensraten der Versuchstiere bis auf 10 % an. Damit war der Vorversuch für unsere Zwecke befriedigend verlaufen, da es uns nicht darauf ankam, die Nebenwirkungen der einzelnen Zytostatika auf Normalgewebe untereinander zu vergleichen, sondern nur für radiologisch-zytostatische Kombinationsversuche die therapeutischen Einheiten (TE) der Substanzen größenordnungsmäßig festliegen zu haben.

Tab. 1 Absterberaten männlicher NMRI-Mäuse von 22-24 g nach intraperitonealer Gabe einer DL₅₀ verschiedener Zytostatika in 0,25 ml phys. NaCl. DL₅₀-Angaben aus Literatur bzw. Firmenangaben.

	Injektionstag	1. Tag				10. Tag				20. Tag				30. Tag			
		1. Tag				10. Tag				20. Tag				30. Tag			
Endoxan (300 mg/kg)	Lebend N Tot %	48	34	31	31	34	54,7	58,7	58,7	31	58,7	58,7	58,7	31	58,7	58,7	58,7
Natulan (580 mg/kg)	N %	38	37	37	37	37	50,7	50,7	50,7	37	50,7	50,7	50,7	37	50,7	50,7	50,7
Proresid (280 mg/kg)	N %	40	38	38	38	38	49,3	49,3	49,3	38	49,3	49,3	49,3	37	50,7	50,7	50,7
5 - FU (188 mg/kg)	N %	52	40	35	35	40	46,7	53,3	53,3	35	53,3	53,3	53,3	34	54,7	54,7	54,7
NaCl-Kontr.	Lebend N Tot %	49	49	49	49	49	2,0	2,0	2,0	49	2,0	2,0	2,0	47	6,0	6,0	6,0

B. Beobachtungen über das Verhalten des relativen Hodengewichtes von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung.

Soweit in den folgenden Tabellen und Abbildungen Werte von Versuchsgruppen dargestellt sind, die im 48-Stunden-Rhythmus 5 x 20 R oder 5 x 40 R lokal auf die Skroten gegeben wurden, oder die, ebenfalls im 48-Stunden-Rhythmus, 5 x 3,3 bis 13,3 TE Endoxan erhielten oder 5 x 10 TE Endoxan + 5 x 20 R entstammen die Zahlengruppen der aus unserer Arbeitsgruppe früher von E.SCHNEIDER (1967) gefertigten Dissertation. Auch die 50 Kontrolltiere von E.SCHNEIDER wurden benutzt. Allerdings liefen 20 eigene Kontrollen, deren Gewichts- und Hodengewichtsverhalten denen der 50 Kontrollen von E.SCHNEIDER (1967) entsprachen, so daß jetzt eine Kontrollgruppe von 70 Tieren gebildet wurde. Die eigene Versuchsreihe lief von März bis Mai 1967. Es wurden von den drei Zytostatika Natulan, Proresid und 5-FU je 10 Tiere im 48-Stunden-Rhythmus intraperitoneal mit 5 x 3,3 TE, 5 x 6,6 TE und 5 x 13,3 TE behandelt, je 20 bis 30 Tiere mit 5 x 10 TE, ferner je 20 bis 30 Tiere mit je 5 x 10 TE + 5 x 20 R. Insgesamt umfaßte die eigene Untersuchung 252 Mäusemännchen.

Die Ergebnisse der Feststellung der relativen Hodengewichte in mg/g gehen aus Tabelle 2 hervor, die auch über die Standardabweichungen und die 95%-Vertrauensbereiche orientiert. Die Abbildungen 4 und 5 sind graphische Darstellungen des Inhaltes der Tabelle 2.

Aus Abbildung 5 wird deutlich, daß bei allen vier untersuchten Zytostatika eine Dosisabhängigkeit der Reduktion des Hodengewichtes bestehen dürfte, wobei deren Größenordnung zwischen bei den vier verschiedenen Stoffen beachtliche Unterschiede aufweist. Am deutlichsten wirkt Natulan, am wenigsten deutliche Proresid.

Abbildung 6 bemüht sich um eine graphische Darstellung der mittleren relativen Hodengewichte nach 5 x 20 R + 5 x 10 TE jedes der vier Zytostatika und nach den Einzelagentien in diesen Dosierungen. Es wird deutlich, daß nach Kombinationsbehandlung in jedem Fall die Wirkung der Bestrahlung alleine bzw. des einzelnen Zytostatikums alleine überschritten wird, wobei der Kombinationseffekt bei Endoxan additiver, bei Natulan subadditiver, bei Proresid und 5-FU superadditiver Art ist.

Abb. 4:

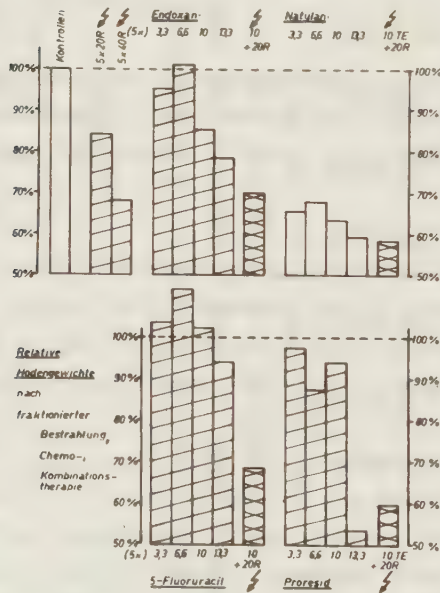
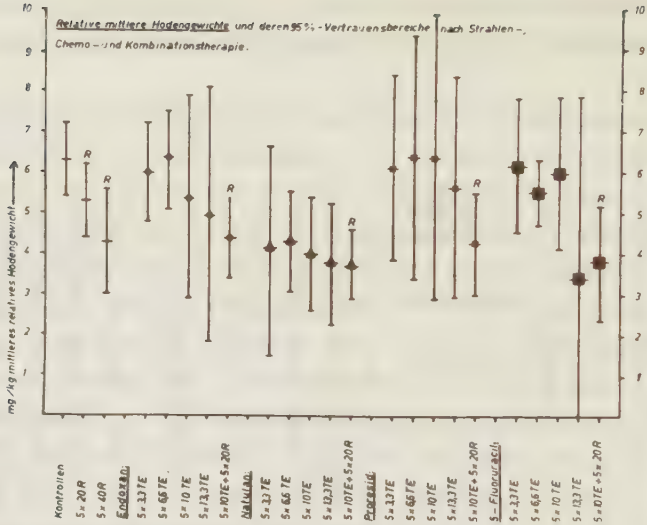
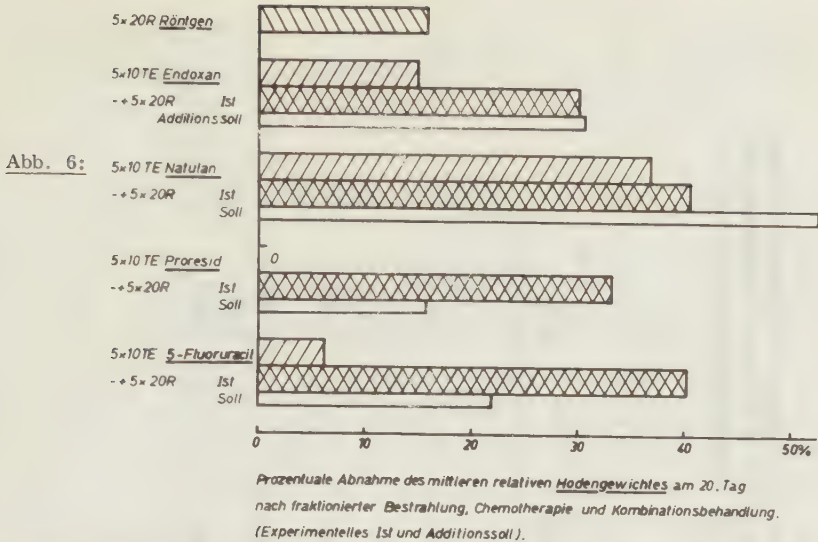


Abb. 5: Aufstellung der mittleren relativen Hodengewichte der Versuchsgruppen nach alleiniger fraktionierter Röntgenbestrahlung, alleiniger fraktionierter Behandlung mit Endoxan, Natulan, Proresid und 5-FU sowie fraktionierter Kombinationsbehandlung.



Aus Tabelle 3 wird ersichtlich, daß die Hemmeffekte auf die relativen Hodengewichte durch 5 x 20 R wie 5 x 10 TE Endoxan oder Natulan sich mit einer statistischen Wahrscheinlichkeit von weniger als 1 % sichern lassen, die von 5 x 10 TE 5-FU von weniger als 10 %. Der Hemmeffekt durch 5 x 20 R ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % abgesichert gegen die Hemmeffekte durch 5 x 20 R + 5 x 10 TE jedes der vier Zytostatika. 5 x 10 TE Endoxan oder Proresid oder 5-FU lassen sich mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % sichern gegen 5 x 10 TE dieser Substanzen + 20 R, für 5 x 10 TE Natulan geht dies nur mit weniger als 10 %.

Fazit: Somit ist die Feststellung erlaubt, daß der Kumulationseffekt, der am männlichen Keimepithel nach kombinierter Behandlung mit ionisierender Strahlung und vier Zytostatika auftritt, subadditiven bis superadditiven Charakter haben kann. Dabei ist die Kumulationsgröße nicht nur von der Substanz, sondern auch von der Dosis abhängig, wie E. SCHNEIDER (1967) zeigen konnte, der einige Strahlen- und Endoxandosen kombinierte.

Tab. 3: Irrtumswahrscheinlichkeiten zwischen den in Abb. 7 miteinander verglichenen Größen (mittlere relative Hodengewichte am 20. Tag nach 5 x 20 R lokaler Bestrahlung oder 5 x 10 TE eines Zytostatikums intraperitoneal zur Kombinationsbehandlung) untereinander und zu den Kontrolltieren nach dem t-Test.

	<u>Kontrollen gegen</u>			
	5 x 20 R	5 x 10 TE Endoxan	5 x 10 TE Natulan	5 x 10 TE 5-FU
N_1	70	70	70	70
N_2	30	30	29	20
s_1^2	0, 2024	0, 2024	0, 2024	0, 2024
s_2^2	0, 1925	1, 503	0, 4882	0, 7681
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	0, 992	0, 927	2, 335	0, 380
t	10, 28	4, 026	16, 62	1, 870
P <	0, 01	0, 01	0, 01	0, 1

Tab. 3a: Fortsetzung von Tab. 3.

	5 x 20 R gegen							
	+5x10 TE Endoxan	+5x10 TE Natulan	+5x10 TE Proresid	+5x10 TE 5-FU	5x10 TE Endoxan	5x10 TE Natulan gegen - + 5 x 20 R	5x10 TE Proresid	5x10 TE 5-FU
N_1	30	30	30	30	30	29	20	20
N_2	30	30	20	22	30	30	20	22
s_1^2	0,1925	0,1925	0,1925	0,1925	1,503	0,4882	2,268	0,7681
s_2^2	0,2477	0,1970	0,3717	0,4477	0,2477	0,1970	0,3717	0,4777
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	0,901	1,611	1,086	1,545	0,966	0,265	2,174	2,157
t	7,839	14,18	9,451	6,879	3,986	1,733	5,986	8,904
P <	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,1	0,01	0,01

C. Beobachtungen über das Verhalten des absoluten Schwanzlängenzuwachses
infantiler Mäuse nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytosta-
tischer Behandlung.

Diese Versuche wurden in den Monaten April bis Juli 1967 durchgeführt. 72 Würfe standen zur Verfügung. Daraus wurden 503 Versuchstiere und 162 Kontrolltiere entnommen. Gewichts- und Schwanzlängenwachstumsverlauf dieser Kontrollen wurden den von 121 NaCl-Kontrollen von RINGLEB (1967) aus unserer Arbeitsgruppe so ähnlich, daß eine gemeinsame Kontrollgruppe von 283 Tieren, davon am 30. Tage nach Überschreiten der 6-g-Gewichtsgrenze 282 überlebend, gebildet werden konnte. Sofern im Folgenden von nur bestrahlten oder von alleinig oder kombiniert mit Endoxan behandelten Tieren die Rede ist, entstammen die Werte der Veröffentlichungen von RINGLEB (1967). Unsere 503 jetzigen eigenen Versuchstiere aus 72 Würfen verteilen sich auf folgende Versuche: 7 Würfe (zu je 7 Versuchstieren) für 5 x 3,3 TE Proresid im 48-Stunden-Rhythmus vom Tage des Überschreitens der 6-g-Körpergewichtsgrenze an, 3 Würfe für 5 x 6,6 TE, 5 Würfe für 5 x 3,3 TE Proresid + 1000 R einzzeitig kurz vor der ersten Injektion, je 5 Würfe für 5 x 3,3 TE und 5 x 13,3 TE Natulan, je 3 Würfe für 5 x 6,6 TE und 5 x 20 TE Natulan, je 5 Würfe für 5 x 3,3 TE Natulan + 1000 R und 5 x 13,3 TE Natulan + 1000 R, je 5 Würfe 5 x 3,3 TE, 5 x 6,6 TE und 5 x 13,3 TE 5-FU und 3,3 TE 5-FU + 1000 R und 13,3 TE 5-FU + 1000 R. In je 3 weiteren Würfen, über die nicht mehr berichtet wird, gingen sämtliche Tiere bei dem Versuch, 5 x 13,3 TE Proresid und 5 x 20 TE 5-FU zu geben, zugrunde.

Das mittlere Körpergewicht der 283 Kontrollen an dem Tag, an dem bei ihren Geschwistern die Behandlung begonnen wurde, betrug 6,32 g. Die mittleren Körpergewichte der insgesamt 21 Versuchsgruppen, über die im Folgenden berichtet wird, betrugen zwischen 5,88 und 6,36 g. Die mittleren absoluten Schwanzlängen der 283 Kontrollen betrugen zu Versuchsbeginn 3,92 cm. In den 21 Versuchsgruppen schwanken die mittleren absoluten Schwanzlängen zwischen 3,65 und 4,21 cm.

Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, welche mittleren absoluten Schwanzlängenzuwächse in der Kontrollgruppe und den 21 Versuchsgruppen am 30. Tag nach Versuchsbeginn erreicht wurden. Dabei wurde der Schwanzzuwachs jedes Tieres für sich berechnet, und daraus die Mittelwerte gewonnen. Weiter sind in Tabelle 4 die Mittelwerte der absoluten Schwanzlängenzuwächse in Relation zu den Kontrollen (= 100%) und die prozentualen Schwanzlängenwachstumsrückstände (Kontrollen = 0%) aufgeführt.

Tab. 4

Absolute mittlere Schwanzlängenzuwächse ($\bar{x}$) infantiler Mäuse, deren Standardabweichungen (s) und 95%-Vertrauensbereiche am 30. Tage nach Versuchsbeginn. Einzelbestrahlung, Chemo- und Kombinationsbehandlung.

	Endoxan				Natulan					
	Kontrollen	1000 R	5x3,3 TE	5x6,6 TE	5x13,3 TE	5x 20 TE	5x3,3 TE + 1000 R	5x13,3 TE + 1000 R	5x3,3 TE + 1000 R	5x13,3 TE + 1000 R
N	282	69	62	44	59	30	35	32	34	34
s	,097	0,398	,532		0,584		,430	,380	,349	,441
$\bar{x}$ (cm)	4,80	3,38	4,64	3,87	2,97	2,85	3,21	2,22	4,84	2,94
95%-VB ⁺ (-cm)	0,19	0,79	1,05		1,17		0,87	0,77	0,61	0,90
$\bar{x}$ in % der Kontrollen	100	70,4	96,7	80,6	61,9	59,4	66,9	46,3	100,8	61,3
Wachstumsrückstand (%)	0	29,6	3,3	19,4	38,1	40,6	33,1	53,7	-	38,7
	Proresid				5-Fluoruracil					
	48	3	32	35	30	28	35	29	35	29
N										
s	0,817		,317	,302		,507	,374	,516	,374	,516
$\bar{x}$ (cm)	4,81	4,66	3,25	4,67	4,42	3,89	3,42	2,22	3,42	2,22
95%-VB ⁺ (-cm)	1,66		0,65	0,61	1,04		0,76	1,06	0,76	1,06
$\bar{x}$ in % der Kontrollen	100,2	97,1	67,7	97,3	92,1	81,0	71,3	46,3	71,3	46,3
Wachstumsrückstand (%)	-	2,9	32,2	2,7	7,9	19,0	28,7	53,7	28,7	53,7

Abbildung 7 zeigt eine graphische Darstellung der 95 %-Vertrauensbereiche, Abbildung 8 in der Übersichtsdarstellung die mittleren absoluten Schwanzlängen in % der Kontrollen (= 100%). Abbildung 9 zeigt die prozentualen Rückstände des Schwanzlängenwachstums nach $5 \times 3,3$ TE und $5 \times 13,3$ TE jedes der vier Zytostatika allein und nach vorangegangener Applikation von je 1000 R.

Abb. 7:

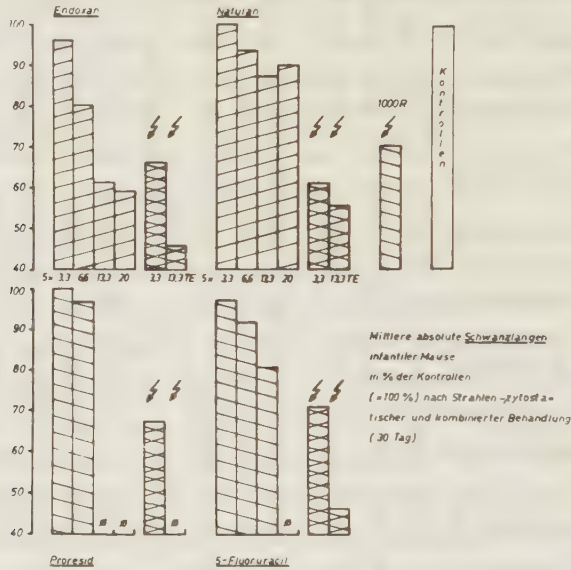


Abb. 8:

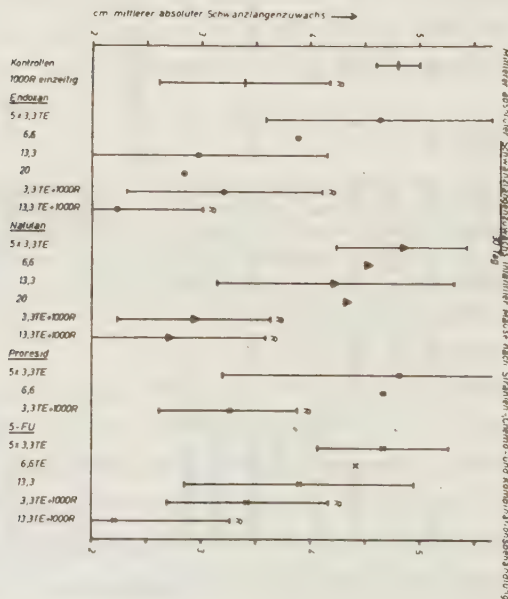
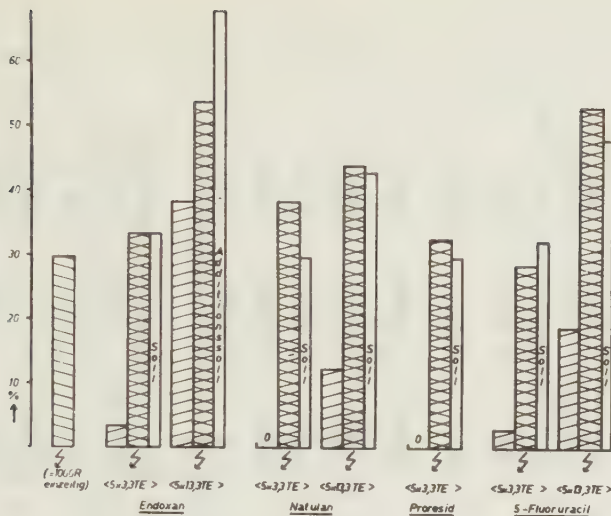


Abb. 9:



Prozentualer Rückstand des Schwanzlängenwachstums infantiler Mäuse nach Bestrahlung, Chemo- und Kombinationstherapie. (Kontrollen = 0%). 30. Tag.

Tabelle 5 enthält die dazugehörigen statistischen Daten. Gegen die Kontrollen sind sämtliche Versuchsgruppen außer den alleinigen kleinen Dosen Natulan und Proresid befriedigend abgegrenzt, d.h. mit P kleiner als 0,02. Gegenüber dem Wert für 1000 R einzeitiger Bestrahlung sind von den Kombinationsgruppen die mit der zusätzlichen kleinen Dosis an Endoxan oder Proresid oder 5-FU nicht sicherbar. Dies gelang bei der kleinen zusätzlichen Dosis Natulan. Bei den großen zusätzlichen Dosen Endoxan und Natulan oder 5-FU beträgt die Irrtumswahrscheinlichkeit weniger als 1 %. Alleinige zytostatische Behandlung ist gegenüber den Werten für zusätzliche vorangegangene Schwanzbestrahlung mit 1000 R in allen Versuchsgruppen mit Irrtumswahrscheinlichkeiten unter 1 % gesichert.

Fazit: Dies bedeutet, daß festgestellt werden kann, daß radiologisch-zytostatische Kombinationsbehandlung mit Endoxan, Natulan, Proresid und 5-FU bezüglich der Rückstände des Wachstums der Hypophysenknorpel infantiler Mäuseschwänze zu Kumulationseffekten führt, die abhängig von Dosis und Präparat subadditiver oder bis superadditiver Art sein können. Innerhalb der Versuchsgruppen mit den gleichen Zytostatika besteht eine befriedigende Dosisabhängigkeit der Reduktion des Schwanzlängenwachstums.

Tab. 5: Irrtumswahrscheinlichkeiten für die in Abb. 9 miteinander verglichenen Größen (mittlere absolute Schwanzlängenrückstände infanter Mäuse am 30. Tag nach Einzelbestrahlung mit 1000 R, 5-fach im 48-Stunden-Rhythmus fraktionierter zytostatischer und kombinierter Behandlung) untereinander und zu den Kontrollen.

Kontrollen gegen

1000 R	5x3, 3 TE Endoxan	5x13, 3 TE Endoxan	5x3, 3 TE Natulan	5x13, 3 TE Natulan	5x3, 3 TE Proresid	5x3, 3 TE 5-FU	5x13, 3 TE 5-FU
N_1	282	282	282	282	282	282	282
N_2	69	62	59	34	35	48	35
s_1^2	,0094	,0094	,0094	,0094	,0094	,0094	,0094
s_2^2	,1581	,2833	,3405	,0911	,3044	,6667	,0911
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	1,42	0,16	1,83	0,04	0,60	0,01	0,13
t	18,32	2,353	24,08	0,784	6,452	0,085	2,549
P <	0,01	0,02	0,01	0,5	0,01	> 0,9	0,02

1000 R gegen 1000 R+

5x3, 3 TE Endoxan	5x13, 3 TE Endoxan	5x3, 3 TE Natulan	5x13, 3 TE Natulan	5x3, 3 TE Proresid	5x3, 3 TE 5-FU	5x13, 3 TE 5-FU
N_1	69	69	69	69	69	69
N_2	35	32	34	32	35	29
s_1^2	,1581	,1581	,1581	,1581	,1581	,1581
s_2^2	,1848	,1439	,1218	,1006	,1398	,2664
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	0,17	1,16	0,44	0,69	0,13	0,04
t	1,619	11,49	4,56	6,46	1,781	0,406
P <	0,2	0,01	0,01	0,01	0,1	0,7

Tab. 5a: Fortsetzung von Tabelle 5.

	5x3, 3 TE Endoxan	5x13, 3 TE Endoxan	5x3, 3 TE Natulan	5x13, 3 TE Natulan	5x3, 3 TE Proresid	5x13, 3 TE 5-FU	5x13, 3 TE 5-FU
	gegen diese zytostatische Dosis + 1000 R						
N_1	62	59	34	35	48	35	28
N_2	35	32	34	34	32	35	29
s_1^2	,2833	,3405	,0911	,3044	,6667	,0911	,2567
s_2^2	,1848	,1439	,1218	,1944	,1006	,1398	,2664
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	1,43	0,75	1,90	1,51	1,56	1,25	1,67
t	14,37	7,426	23,93	12,58	12,00	15,37	12,30
p <	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

D. Beobachtungen über die Verzögerung der Abheilungsgeschwindigkeit von Ohrstanzlöchern von Mäusen nach zytostatischer und kombiniert radiologisch-zytostatischer Behandlung.

In Tabelle 6 sind die absoluten Zahlen für zytostatisch unbehandelte und mit 8 TE Endoxan täglich über 31 Tage behandelte Tiere aus einer früheren Veröffentlichung unserer Arbeitsgruppe (RINGLEB 1967) angeführt. Wir selbst haben 55 Tiere im direkten Anschluß an die Stanzung 31 Tage mit 8 TE Natulan oder Proresid oder 5-Fluoruracil täglich behandelt. Nach 2 Monaten bestanden die Tiergruppen noch aus 45, 51 und 48 Tieren. Zwischenzeitlich Verstorbene wurden aus der Betrachtung der Heilung der Stanzlöcher gänzlich ausgeschieden. Die rechten Ohren der Tiere wurden jeweils im direkten Anschluß an die Stanzung, zwischen dieser und der ersten intraperitonealen zytostatischen Applikation, mit 1000 R belegt, so daß bei jedem Tier dann allein das zytostatisch behandelte linke Ohr und das kombiniert behandelte rechte Ohr zur Verfügung standen. Tabelle 7 stellt die absoluten Zahlen von Tabelle 6 in Prozentsätzen dar, wobei die Gruppen I und II zusammengefaßt, also nur noch die Anzahl offener mit der Anzahl geschlossener Stanzlöcher verglichen werden.

Die Irrtumswahrscheinlichkeiten, mit denen die Prozentsätze für geschlossene Ohren an den dargestellten Untersuchungstagen bei kombiniert behandelten Tieren unter den für allein zytostatisch behandelten Tieren liegen, gehen gleichfalls aus Tabelle 7 hervor. Sie betragen vom 7. bis 15. Tag nach der Stanzung an bis 8 Tage vor dem Tag, an dem alle Löcher geschlossen waren, in 2 der 5 jeweils verglichenen Gruppen weniger als 5 %, in den 3 anderen Gruppen sind es bis zum 55. Tag noch weniger als 5 %. Nach Natulan und 5-FU allein und in Kombination wie nach Proresid in Kombination kommt es nicht mehr zum endgültigen Verschluß aller Ohren. Die Irrtumswahrscheinlichkeiten für den Vergleich der 4 zytostatischen Gruppen mit der unbehandelten Gruppe liegen bei Proresid bis zum 19. Tag, bei Endoxan bis zum 22., bei Natulan und 5-Fu bis zum 55. Tage unter 5 %.

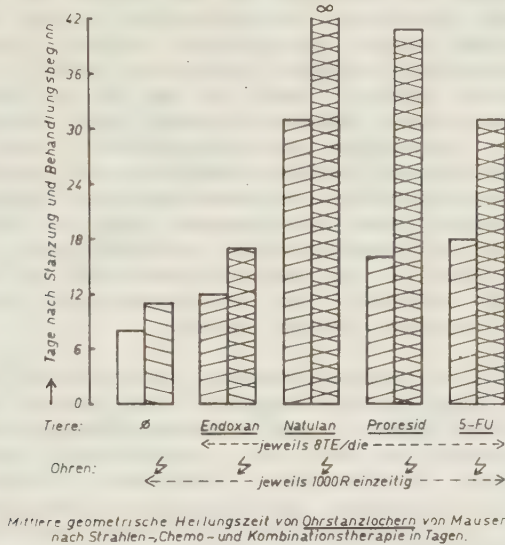
Abbildung 10 stellt die mittlere geometrische Heilungszeit der Ohrstanzlöcher in den 5 Versuchsgruppen graphisch dar. 1000 R allein verzögert die 50 %-Heilung vom 8. auf den 11. Tag um 3 Tage. Die Verzögerung durch alleinige Gabe von je 8 TE Zytostatikum täglich beträgt bei Endoxan 4 Tage, bei Proresid 8 Tage, bei 5-FU 10 Tage und bei Natulan 23 Tage. Zusätzlich zu den zytostatisch bedingten Verzögerungen wird in der Kombination mit 1000 R die mittlere geometri-

Tabelle 7: Relativzahlen zu den Werten der Tab. 6. Angaben der Irrtumswahrscheinlichkeiten, die innerhalb einer Versuchsgruppe (8 TE Zytestatika/die : 1000 R +8 TE/die) zwischen Gruppen I+II und III zustandekommen. (I-III s. Tab. 6), P errechnet im t-Test.

Tag nach Stanzung	7.	11.	15.	19.	23.	27.	31.	35.	39.	43.	47.	51.	55.
Unbehandelt	I+II	70,6	14,7	0	0								
N = 68	III	29,4	85,3	100	100								
P <		0,01	0,01	0,05	0,1								
1000 R	I+II	92,6	51,5	7,4	4,4	0							
N = 68	III	7,4	48,5	92,6	95,6	100							
Endoxan	I+II	97,3	58,9	28,8	11,0	8,2	2,7	0	0	0			
N = 73	III	2,7	41,1	71,2	89,0	91,8	97,3	100	100	100			
P <		0,2	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,2			
- +1000 R	I+II	100	76,7	58,9	47,9	31,5	26,0	19,2	8,2	2,7	0		
N = 73	III	0	23,3	41,1	52,1	68,5	74,0	80,8	91,8	97,3	100		
Natulan	I+II	100	88,9	88,9	80,0	68,9	60,0	48,9	42,2	33,3	22,2		22,2
N = 45	III	0	11,1	11,1	20,0	31,1	40,0	51,1	57,8	66,7	77,8		77,8
P <			0,05	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
- +1000 R	I+II	100	100	100	100	100	100	100	88,9	84,4	84,4		84,4
N = 45	III	0	0	0	0	0	0	0	11,1	15,6	15,6		15,6
Proresid	I+II	100	100	56,9	11,8	0	0	0	0	0	0		0
N = 51	III	0	0	43,1	88,2	100	100	100	100	100	100		100
P <				0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		0,01
- +1000 R	I+II	100	100	100	100	96,1	88,2	70,6	56,9	52,9	45,1		41,2
N = 51	III	0	0	0	0	3,9	11,8	29,4	43,1	47,1	54,9		58,8
5-FU	I+II	100	83,3	60,4	41,7	25,0	14,6	14,6	14,6	14,6			14,6
N = 48	III	0	16,7	39,6	58,3	75,0	85,4	85,4	85,4	85,4			85,4
P <			0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02			0,02
- +1000 R	I+II	100	100	100	89,6	79,2	68,8	60,4	39,6	35,4			35,4
N = 48	III	0	0	0	10,4	20,8	31,3	39,6	60,4	64,6			64,6 *

sche Heilungszeit bei Endoxan um weitere 5 Tage, bei 5-FU um weitere 13 Tage, bei Proresid um weitere 25 Tage verzögert, während die bestrahlten rechten Ohren der Natulantiere die 50-%-Heilung gar nicht mehr erreichten.

Abb. 10:



Fazit: Es ist der Schluß berechtigt, daß auf das Granulationsgewebe im Mäuseohr-stanzloch bei radiologisch-zytostatischer Behandlung ein superadditiver Kumulations-effekt zu entstehen pflegt.

E. Beobachtungen über das Verhalten des Körpergewichtes und der Absterbe-
quoten in den Hoden-, Schwanz- und Ohrenversuchen.

Bei der Betrachtung von Abbildung 5 fällt ohne weiteres auf, daß Natulan bezüglich der relativen Hodengewichte in allen geprüften TE-Stufen den größten Hemmeffekt hervorbrachte, Proresid den geringsten. Abbildung 6 lehrt uns, daß bei Kombinationsbehandlung diesbezüglich superadditive Effekte bei Proresid und 5-FU entstanden sind. Abbildung 8 zeigt, daß, wenn wir die Hemmung der absoluten Schwanzlängen infantiler Mäuse als Kriterium fassen, Natulan wie die beiden geprüften kleinen Proresiddosen kaum einen Effekt haben. Nach Abbildung 9 wird deutlich, daß die erzielten Kombinationseffekte alle fast gleichwertig additiv sind. Was die Heilung von Stanzlöchern an Mäuseohren angeht, ist bei alleiniger zytostatischer Behandlung Natulan am wirksamsten, gefolgt von Proresid, 5-FU und Endoxan; in derselben Reihenfolge werden die Additionseffekte am Mäuseohr zunehmend superadditiv (Abb. 10). Demnach ist keiner der vier Stoffe bei alleiniger oder kombinierter Medikation an den drei Versuchsobjekten immer der wirksamste oder der am wenigsten wirksame gewesen.

Tabelle 8 zeigt die Körpergewichtszuwächse, die während der Dauer der Ohren-, der Hoden- und Schwanzversuche beschrieben werden können. Was die Ohrenversuche angeht, liegen für den 30. und 50. Beobachtungstag aus früheren Protokollen unserer Arbeitsgruppe keine Daten vor. Es nimmt Wunder, daß die Proresid-Tiere unter täglicher Behandlung mit 8 TE bis zum 10. Tag im Durchschnitt über 3 g zugenommen haben, während bei den drei anderen Zytostatika mehrere Gramm Gewichtsverlust zu verzeichnen waren. Nach 30 Tagen zu je 8 TE überwiegt das Durchschnittsgewicht der 5-FU-Gruppe. 20 Tage nach Beendigung der zytostatischen Medikation hat die Natulangruppe ihr Anfangskörpergewicht gerade wieder erreicht, während nach Proresid und 5-FU dieses um 7 bis 9 g überschritten ist. Im Hodenversuch gelang bis zum 30. Tag eine ziemlich gleichmäßige Reduktion des Körpergewichtsansatzes gegenüber den Kontrollen unter Endoxan, Natulan und Proresid um etwa 4 g, nur 5-FU bewirkt hier 3 g weniger. Im Schwanzversuch bewirken gleiche TE von Natulan eine gegenüber der Endoxanwirkung deutlich verringerte Reduktion des Körpergewichtsansatzes der jugendlichen Tiere. In Übereinstimmung mit den Körpergewichtsbefunden bei erwachsenen Tieren im Hoden- und Ohrenversuch wurde durch Proresid und 5-FU bei infantilen Tieren nur eine geringe Minderung des Körpergewichtszuwachses erreicht.

Tabelle 9 schließlich faßt die Absterbequoten übersichtlich zusammen. Danach sind im Ohrenversuch nennenswerte Absterbequoten bei Natulan und 5-Fluoruracil entstanden, im Hodenversuch dagegen bei Endoxan. In den Schwanzversuchen bei infantilen Mäusen erwies sich Proresid als zu den höchsten Absterbequoten führend, gefolgt von 5-FU, schließlich Endoxan, während Natulan auch in hoher TE-Dosis nicht tödlich wirkte.

Fazit: In Tabelle 10 wurde versucht, diese vorstehenden Fakten zusammenzufassen. Es fällt nicht auf, daß eine der 4 Substanzen besonders gehäuft stärkere oder relativ schwächere Effekte verursacht hätte.

Tabelle 8:

Mittlere Körpergewichtszuwächse in Ohren-, Schwanz- und Hodenversuchen.

Ohrenversuch:

8 TE/die vom O. - 30. Tag nach Stanzung täglich. Weibl. Tiere.

	Kontrollen	Endoxan	Natulan	Proresid	5-FU
N	68	73	45	51	48
Zunahme - 10. Tag (g)	+ 3,05	- 5,95	- 6,23	+ 3,30	- 2,23
" - 30. Tag (g)	+ 7,08	-	- 0,16	- 0,03	+ 3,31
" - 50. Tag (g)	+ 10,36	-	+ 0,87	+ 8,86	+ 6,97

Hodenversuch:

5 x n TE am O., 2., 4., 6., 8. Tag. Männl. Tiere.

N	50	10	10	10	10
Zunahme - 30. Tag nach 3,3 TE (g)	9,77	9,31	9,17	8,27	7,34
N	50	19	9	10	10
Zunahme nach 6,6 TE (g)	9,77	5,99	6,36	7,57	7,87
N	50	30	29	20	20
Zunahme nach 10 TE (g)	9,77	6,14	5,73	7,19	8,90
N	50	7	9	10	10
Zunahme nach 13,3 TE (g)	9,77	5,82	5,69	5,88	8,75

Schwanzversuch:

5 x n TE am O., 2., 4., 6., 8. Tag. Infantile Tiere.

N	282	62	34	48	35
Zunahme - 30. Tag nach 3,3 TE (g)	20,05	19,72	18,91	19,14	18,49
N	282	44	21	3	30
Zunahme nach 6,6 TE (g)	20,05	14,11	17,67	19,69	20,15
N	282	59	35	-	27
Zunahme nach 13,3 TE (g)	20,05	10,39	16,50	-	18,68
N	282	30	20	-	-
Zunahme nach 20 TE (g)	20,05	9,5	16,75	-	-

Tab. 9: Absterbequoten in Ohr-, Schwanz- und Hodenversuchen.

<u>Ohrenversuch:</u> 8 TE/die vom 0. - 30. Tage nach der Stanzung täglich					
	<u>Kontrollen</u>	<u>Endoxan</u>	<u>Natulan</u>	<u>Proresid</u>	<u>5-FU</u>
Anfangs-N	70	75	55	55	55
End- N	69	73	45	51	48
Tote %	2,8	2,7	18,2	7,3	12,7
<u>Hodenversuch:</u> 5 x n TE am 0., 2., 4., 6., 8. Tag					
Nach 3,3 TE					
Anfangs-N	382	10	10	10	10
End- N	362	10	10	10	10
Tote %	0,5	0	0	0	0
Nach 6,6 TE					
		20	10	10	10
		19	9	10	10
%	0,5	5,0	10,0	0	0
Nach 10 TE					
		60	60	40	42
		60	59	40	42
%	0,5	0	1,7	0	0
Nach 13,3 TE					
		10	10	10	10
		7	9	10	10
%	0,5	30,0	10,0	0	0
<u>Schwanzversuch:</u> 5 x n TE am 0., 2., 4., 6., 8. Tag					
Nach 3,3 TE					
Anfangs-N	283	102	69	84	70
End- N	282	97	68	80	70
Tote %	0,4	4,9	1,4	4,8	0
Nach 6,6 TE					
		46	21	21	35
		44	21	3	30
%	0,4	4,3	0	85,7	14,3
Nach 13,3 TE					
		110	70	21	70
		91	69	0	57
%	0,4	17,3	1,4	100,0	18,6
Nach 20 TE					
		47	21	0	21
		30	20	0	0
%	0,4	36,2	4,7	0	100,0

Tabelle 10: Übersicht über relativ besonders schwache und besonders starke Effekte der Zytostatika in Ohren-, Hoden- und Schwanzversuchen.

<u>Relativ stärker wirksam</u>		Reduktion von Körpergewicht bzw. -zuwachs (s. Tab. 8)	Absterbequote (s. Tab. 9)	Potenziierung des Strahleneffektes (s. Tab. 2, 4, 7)	Reduktion des Abheilungstempos (Ohr, Tab. 6 - 7) der Zuwachsrates (Schwanz, Tab. 4) des relativen Gewichtes (Hoden, Tab. 2)
im Ohrversuch	Endoxan, Natulan				
im Schwanzversuch	Endoxan		Proresid, 5-FU	-	Endoxan
im Hodenversuch	-		Endoxan	Proresid, 5-FU	Natulan
<u>Relativ schwächer wirksam</u>					
im Ohrversuch	Proresid, 5-FU		Endoxan	Endoxan	Endoxan
im Schwanzversuch	Proresid, 5-FU		Natulan	-	Natulan, Proresid
im Hodenversuch	5-FU		Proresid, 5-FU	Natulan	Proresid

VI. Diskussion.

Werden erwachsenen Mäusemännchen im 48-Stunden-Rhythmus 5 x 20 R gezielt tangential auf die Skroten gegeben, beträgt die prozentuale Abnahme des mittleren relativen Hodengewichtes 20 Tage danach um 15 %. Werden simultan damit jeweils 10 TE von Endoxan oder Natulan als Alkylantien, Proresid als Antimitotikum und 5-FU als Antimetaboliten gegeben, werden Reduktionen von 30 - 40 % erreicht. Die Reduktion durch die Zytostatika allein geht von 0 bis 35 %. Der Kombinationseffekt ist subadditiv bis superadditiv.

Werden infantilen Mäusen von 6 g Körpergewicht einzeitig 1000 R auf den ganzen Schwanz appliziert, beträgt der prozentuale Rückstand des Schwanzlängenwachstums 30 Tage danach etwa 30 %. Werden im Anschluß an die Einzeitbestrahlung die Tiere in fünffacher Fraktionierung mit den vier Substanzen zytostatisch behandelt, betragen die Rückstände nach 16 TE 30 bis 40 %, nach 65 TE 35 - 55 %. Chemotherapie allein führt zu 0 bis 40 %. Der Kombinationseffekt ist je nach Substanz und Dosis sub- bis superadditiv.

Kleine Stanzlöcher in den Mäuseohren heilen unbehandelt nach 8 Tagen zur Hälfte ab. Nach Bestrahlung eines Ohres mit 1000 R einzeitig dauert dies 3 Tage länger. Die Kombinationsbehandlung verzögert die mittlere logarithmische Heilung gegenüber rein zytostatischer Behandlung mit 8 TE täglich dagegen um weitere 5 - 25 und mehr Tage, was einen bei allen Substanzen superadditiven Effekt darstellt.

Eine Systematik, nach welcher eine der vier geprüften Substanzen allein oder in der Kombinationsbehandlung besonders gehäuft stärkere oder relativ schwächere Effekte hervorriefe, ist nicht zu erkennen.

Damit ist nachgewiesen, daß die Vermutungen, die BARTH et al. (1966) über die Summation von Nebeneffekten einer kombiniert radiologisch-zytostatischen Behandlung ausgesprochen hatten, und deren Richtigkeit für das Endoxan bereits von RINGLEB (1967) experimentell bewiesen wurde, auch für Natulan als weiteres Alkylans, Proresid als Antimitotikum und 5-Fluoruracil als Antimetaboliten faktische Gültigkeit haben. Für germinatives, jugendliches und granulatives Proliferationsgewebe ist gezeigt, daß die Einzeleffekte ionisierender Bestrahlung und

zytostatischer Medikation subadditiv bis superadditiv kumulieren. Was das männliche Keimepithel betrifft, ist kein Grund ersichtlich, warum die in unserer Arbeitsgruppe im Tierexperiment gewonnenen Daten nicht direkt auf die Humanklinik übertragbar sein sollten. Für die Möglichkeit der Wachstumsschädigung nach kombinierter Behandlung von Malignomen in der Humanpädiatrie dürfte grundsätzlich gleiches gelten, wenn dem auch etwa die Erfahrungen von HOLWEG entgegen gehalten werden können, wonach die erwartet gewesene allgemeine Wachstumsverzögerung durch zytostatische Behandlung von Kleinkindern in den üblichen Dosen nicht deutlich wird. Dies ist sicher ein Dosisproblem, und wir glauben, daß die von uns gezeigte Kombinationsschädigungsmöglichkeit der Epiphysenfugen auch mit so hoher Wahrscheinlichkeit für die Humanklinik gelten könnte, daß sie bei manchen therapeutischen Entschlüssen bedacht werden sollte. Was die Deutung unserer Ohrversuche angeht, sind an der Ausheilung unserer Stanzlöcher epitheliale und Bindegewebsanteile beteiligt, und es weist die im Kombinationsversuch zunehmende Abheilungsverzögerung darauf hin, daß prinzipiell auch der Ablauf bindegewebiger Reaktionen verlangsamt werden kann.

RINGLEB schrieb im Vorjahr, daß eine radiologisch-zytostatische Synkarzinolyse ohne Synzytostase unter den derzeitigen Verhältnissen unvorstellbar sei. Mit unseren Experimenten ist der auf Normalgewebe bezogene Teil dieser Aussage bestätigt worden. Zumindest wirken die geprüften Zytostatika zusammen mit ionisierenden Strahlen auf Proliferationsgewebe synzytostatisch.

VII. Zusammenfassung

Es wird der Effekt einer simultan kombinierten, fraktionierten Röntgen-Zytoplastika-Behandlung auf das Gewicht von Mäusehoden und auf die Wachstumsrate der Schwänze infantiler Mäuse untersucht, desgleichen der Einfluß einer zytoplastischen Nachbehandlung nach Röntgenbestrahlung auf die Wundheilung am gestanzten Mäuseohr. Es finden sich wie nach dem Alkylans Endoxan, über dessen in Kombination mit Röntgenstrahlung auftretende synzytostatische Eigenschaften aus unserer Arbeitsgruppe schon berichtet wurde, bei dem Alkylans Natulan, bei dem Antimitoticum Proresid und dem Antimetaboliten 5-Fluoruracil synzytostatische Effekte an germinativen, jugendlichen und granulativen Proliferationsgeweben. Diese Ergebnisse werden in ihrer Übertragbarkeit auf die Humanklinik positiv diskutiert.

VII. Literaturverzeichnis.

ANDER, E.

Untersuchungen zur Frage der individuellen Röntgenstrahlenempfindlichkeit, zugleich ein Beitrag zur Entwicklung und Vervollständigung strahlenbiologischer Testreaktionen.

Inaug.Diss.Med. Giessen 1966

ARNOLD, H., F. BOURSEAUX u. N. BROCK

Neuartige Krebs-Chemotherapeutika aus der Gruppe der zyklischen N-Lost-Phosphamidester.

Naturwiss. 45, 1958, 64

ASCHOFF, J.

Die Bedeutung der Tagesperiodik für Tierhaltung und Tierexperiment.

In: Die Umwelt der Versuchstiere; hergb. v. W.H. WEIHE;

Berlin-Stuttgart 1964, S. 43

BACQ, Z.M., u. P. ALEXANDER

Fundamentals of Radiobiology.

2. Aufl., Oxford-London-New York-Paris 1961

BALKIN, M.

Fed. Proc. 6, 1947, 308.

Nach Stähelin, W., et al. (1964)

BANE, H.N., J.T. CONRAD u. G.S. TARNOWSKI

Combination Therapy of Malignant Tumors with Ionizing Radiations and Chemicals: a Review.

Cancer Res. 17, 1957, 551

BARTH, G., G.v. FREIER, H. GRAEBNER u. D. RINGLEB

Umgestaltung einer Röntgen-Materialprüfanlage zur Tierbestrahlung.

Strahlentherapie 124, 1964, 137

--, u. D. RINGLEB

Radiologische und kombiniert radiologisch-cytostatische Geschwulstbehandlung.

In: Therapie maligner Tumoren; hergb. v. E.HOLDER, F.MEYTHALER u.

R.DU MESNIL DE ROCHEMONT; 1. Bd., Stuttgart 1966, S. 824

BENTLEY, R.

Pharm. J. and Trans. 3, 1861, 456

Nach EMMENEGGER, H., et al. (1961)

BERNEIS, K., M. KOFLER, W. BOLLAG, H. KAISER u. A. LANGENAHM

The Degradation of Desoxyribonukline Acid by New Tumor-Inhibiting Compounds; the Intermediate Formation of Hydrogen Peroxide.

Experientia 19, 1963, 132

BERRY, R.J., u. J.R. ANDREWS

Modification of radiation effect on mammalian Tumor cells by pharmacological agents.

Nature (London) 1962, 185

BOLLAG, W.

Tierexperimentelle Untersuchungen mit dem Cytostatikum 5-Fluoruracil.

Schweiz. Med. Wochenschrift. 1957, 817

--, u. E. GRÜNBERG

Tumor Inhibitory Effects of a New Class of Cytotoxic Agents: Methylhydrazine Derivatives.

Experientia 19, 1963, 130

BOLT, W., F. RITZL u. H. NAHRMANN

Untersuchungen mit einem tritiummarkierten N-Lost-Derivat in der Karzinom-behandlung.

Sonderband 52 zur Strahlentherapie, 1963, 116

BRENNAN, M.J., R.H. TALLEY, E.L. SAN DIEGO, J.H. BURROWS, R.M. O'BRYAN, V.K. VAITKEVICIUS u. S. HOREGLAD

Critical Analysis of 594 Cancer Patients treated with 5-Fluoruracil.

In: Chemotherapy of Cancer, hergb. v. P.A. PLATTNER,

Amsterdam-London-New York, 1964, S. 118

BROCK, H., u. H.-J. HOHORST

Über die Aktivierung von Cyklophosphamid in vivo and in vitro.

Arzneim.-Forsch. 13, 1963, 1021

-- u. H. WILLMANN

Wirkung eines zyklischen N-Lost-Phosphamidesters auf experimentell erzeugte Tumoren der Ratte. Chemotherapeutische Wirksamkeit und pharmakologische Eigenschaften von B 518 ASTA.

Dtsch.med.Wschr. 83, 1958, 453

COTTIER, H.

Histopathologie der Wirkung ionisierender Strahlen auf höhere Organismen.

In: Handbuch der medizinischen Radiologie; hergb. von L. DIETHELM, O. OLLSON, F. STRNAD, H. VIETEN u. A. ZUPPINGER, 2. Bd., 2. Tl.,

Berlin-Heidelberg-New York 1966, S. 35

D' ALESSANDRI, A., H.J. KEEL, W. BOLLAG u. G. MARTZ

Erste klin. Erfahrungen mit einem neuen Cytostatikum.

Schweiz. Med. Wschr. 93, 1963, 1018

DELIHAS, N., M.A. RICH u. M.L. EIDINOFF

Radiosensitization of mammalian cell line with 5-bromo-deoxyuridine.

Radiat. Res. 17, 1962, 479

DJORDJEVIC, B.

Chromosomal aberrations in synchronized mammalian cells with 5-bromo-deoxyuridine and irradiated by ultraviolet light.

Nature (London) 206, 1965, 1165

DRUCKREY, H., u. S. RAABE
Organspezifische Chemotherapie des Krebses.
Klin. Wschr. 30, 1952, 882

-- u. D. STEINHOFFER, M. NAKAYAMA, P. PREUSSMANN u. K. ANGER
Experimentelle Beiträge zum Dosis-Problem in der Krebs-Chemotherapie und
zur Wirkungsweise von Endoxan.
Dtsch. med. Wschr. 88, 1963, 651 u. 715

DUSCHINSKY, R., E. PLAVEN u. C. HEIDELBERGER
XVI. Intern. Kongr. Reine und angewandte Chemie,
Paris 1957
Nach BOLLAG, W.

--, R. SCHNITZER, E. PLAVEN u. J. SCHEINER
Nature 179, 1957, 663
Nach BOLLAG, W.

EMMENEGGER, H., H. STÄHELIN, J. RUTSCHMANN, J. RENT u. A. von
WARTBURG
Zur Chemie und Pharmakologie der Podophyllin-Glucoside und ihrer Derivate.
Arzneim.-Forsch. 11, 1961, 327

ERIKSON, R.L., u. W. SZYBALSKI
Molecular radiobiology of human cell lines. III. Radiation-sensitizing properties
of 5-iododeoxyuridine.
Cancer Res. 23, 1963, 122

FLETCHER, G.H., H.D. SUIT, C.D. HOWE, M. SAMUELS, R.H. JESSE jr.
u. R.U. VILLAREAL
Clinical method of testing radiation-sensitizing agents in squamous cell carcinoma.
Cancer 16, 1963, 355

GAUWERKY, F.
Über die Strahlenschädigung des wachsenden Knochens.
Strahlentherapie 113, 1960, 325

GERHARTZ, H.
Contributions for the Biological and Clinical Effect of a Methylhydrazine Derivative.
In: Chemotherapy of Cancer, hergb. v. P.A. PLATTNER,
Amsterdam-London-New York 1964, S. 215

GHYS, R., Y. ROY u. A. REUTER
Inhibition de la croissance tumorale chez le rat par l'irradiation et par un
antimétabolite.
Oncologie (Basel) 18, 1964, 43

GITLIN, D., S.L. COMMERFORD, E. AMSTERDAM u. W.L. HUGHES
X-rays affect the incorporation of 5-iododeoxyuridine into deoxyribonucleic acid.
Science 133, 1961, 1074

HARTWELL, I.L., u. M.J. SHEAR
Cancer Res. 7, 1947, 716
Nach STÄHELIN, W., et al. (1964)

-- u. A.W. SCHRECKER
J. Americ. Chem. Soc. 72, 1950, 3320; 13, 1951, 2909
Nach EMMENEGGER, H., et al. (1961)

HEIDELBERGER, C.
Biochemistry of 5-Fluoruracil.
In: Chemotherapy of Cancer; hergb. v. P.A. Plattner,
Amsterdam-London-New York, 1964, S. 87

HEITE, J.
Ein tierexperimentelles Modell zur quantitativen Prüfung wundheilungsfördernden Salben.
Arzneim.-Forsch. 5, 1955, 151

HEITE, H.J., u. K.H. NIKOLAI
Eine Methode zur quantitativ-vergleichenden Erfassung der gewebsschädigenden Wirkung von Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 100, 1956, 455

HODNETT, E.M.
Drugs used with radiation in treatment of cancer.
Cancer chemother. Rep. 32, 1963, 55

HOLWEG, H.-J.
Über die allgemeine Entwicklung zweier Säuglinge, die nach Sarkomoperation ein Jahr lang mit Endoxan behandelt wurden.
Mschr. Kinderkh. 111, 1963, 307

HOPPE, L.
Der Einfluß verschiedener zytostatischer Substanzen auf die Granulationsgewebsbildung experimentell gesetzter Wunden.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. 68, 1962, 259

HORVARTH, J., F.E. JUHASZ u. L. URBANY
Über die Strahlenschädigung wachsender Knochen.
Strahlentherapie 118, 1962, 462

HOWE, C.D., G.H. FLETCHER, M.L. SAMUELS u. H.D. SUIT
Combined 5-Fluorouracil and cobalt irradiation evaluated by double blind technique.
Acta unio internat. contra cancerum 20, 1964, 400

HUBACHER, O.
Fünfjahresresultate bei der Kombinationsbehandlung mit der Kobaltbombe und den Zytostatika SP-G und SP-I (Sandoz).
Dtsch.med.Wschr. 90, 1965, 2145

HUMPHREY, R.M., W.C. DEWEY u. A. CORK

Effect of oxygen in mammalian cells sensitized to radiation by incorporation of 5-bromodeoxyuridine into the DNS.

Nature (London) 198, 1963, 268

HUTCHINSON, F.

Radiosensitization of pneumococcus cells and deoxyribonucleic acid to ultraviolet light and X-rays by incorporated 5-bromodeoxyuridine.

Biochim. et biophys. Acta 91, 1964, 527

JUNG, S.

Grundlagen für die Zucht und Haltung der wichtigsten Versuchstiere.

Stuttgart 1962

KAPLAN, J.W.

New Orleans M. and S.J. 94, 1942, 388

Nach EMMENEGGER, H. et al. (1961)

KARRER, K.

Zytostatika und Wundheilung.

3. Internat. Kongr. Chemother., Juli 1963, Stuttgart, 2. Bd., S. 1081

KLIGERMAN, M.M., u. D.M. SHAPIRO

Augmentation of radiotherapeutic effect by cancer chemotherapy.

Radiology 69, 1957, 194

KOHN, H.J., u. R.F. KALLMAN

Testis weight loss as a quantitative measure of X-ray injury in the mouse, hamster and rat.

Brit. J. Radiol. 27, 1954, 586

--

The effect of fractionated X-ray dosage upon the mouse testis.

J. Nation. Cancer Inst. 4, 1955, 891

LEVINE, M.

The Action of Colchicine on Cell Division in Human Cancer, Animal and Plant Tissues.

Ann. N.Y. Acad. Sc. 51, 1951, 1365

LETTRE, H., u. S. WITTE

Experimentelle und klinische Erfahrungen mit Podophyllinderivaten in der Chemotherapie.

Stuttgart 1967

LOKEN, M.K., Y.S. KIN, D.G. MOSSER u. J.F. MARVIN

The effect of combined irradiation and chemotherapy on cancer grow.

Radiology 73, 1959, 166

LOWRY, G.M.

Additive cytotoxicity of 5-fluorouracil and x-radiation on diploid cell strains.

Cancer Res. 25, 1965, 760

MAISIN, H.

Chimiothérapie anticancéreuse et radiosensibilisation.

J. belge Radiol. 46, 1963, 391

MARTIN, D.S., M.M. KLIGERMAN u. R.A. FUGMANN

Radiotherapy and adjuvant combination chemotherapy

(6-aminonicotinamide and 6-mercaptopurine).

Cancer Res. 18, 1958, 893

MARTZ, G.

Clinical results with a Methylhydrazine Derivative.

In: Chemotherapy of Cancer, herggb. von P.A. PLATTNER,

Amsterdam-London-New York 1964, S. 198

MATHÈ, G., O. SCHWEISSGUTH, M. SCHNEIDER, J.J. AMIEL, L. BERUMEN,

G. BRULE, A. CATTAN u. L. SCHWARZENBERG

Methyl-Hydrazine in Treatment of Hodgkins Disease etc.

Cancer Res. 1963, 1077

NALKINSON, F.D., M.L. GRIEM u. P.H. MORSE

Colchicine synergism of mouse hair root changes produced by x-ray irradiation.

J. Invest. Derm. 37, 1961, 337

PAPAC, R.J.

The relative Place of Chemotherapy and Radiation Therapy.

In: Progress in Radiation Therapy; herggb. v. F. BUSCHKE,

2. Bd., New York-London 1962, S. 137

PERTHES, G.

Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf epitheliale Gewebe, insbesondere auf das Carcinom.

Arch. klin. Chir. 71, 1903, 955

RAUSCH, L.

Strahlenbiologische Untersuchungen zur Sieb- und Rasterbestrahlung. 1. Mitteilung: Tierexperimentelle Studien über die Bedeutung des Homogenitätsquotienten für den hautschonenden Effekt der Siebbestrahlung.

Strahlentherapie 115, 1961, 283

--

Über den Vorgang der Erholung im bestrahlten Gewebe, zugleich ein Beitrag zur Frage der Kombinationsnoxe.

Strahlentherapie 118, 1962a, 276

--

Tierexperimentelle, histologische und dosimetrische Untersuchungen über einfache strahlenbiologische Modelle und ihre praktische Anwendung.

5. Mitteilung: Die Bedeutung der räumlichen Dosisverteilung beim Stanzloch-Abheilungstest am Kaninchenohr, zugleich ein Beitrag zur Frage nachbarschaftlicher Wechselwirkungen zwischen bestrahlten und unbestrahlten Geweben.

Strahlentherapie 118, 1962b, 550

--

Schnell ablaufende Erholungsvorgänge in der Haut nach Röntgenbestrahlung.
Strahlentherapie 127, 1965, 393

-- u. E. ANDER

Untersuchungen zur Beziehung zwischen örtlicher und allgemeiner Strahlenempfindlichkeit.

Sonderband 62 zur Strahlentherapie, 1966, 198

--, W. KOCH u. G. HAGEMANN

Klinische und dosimetrische Untersuchung zur Frage der kritischen Dosis und typischer Strahlenschäden am Skelett bestrahlter Angiom-Patienten.

Sonderband 55 zur Strahlentherapie, 1964, 199

RAVENTOS, A.

Combined Radiation and Chemotherapy.

In: Current Perspectives in Cancer Therapy; hersgb. v. W.S. BLACKMORE u. J.S. RAVDIN, New York-London 1966, S. 58

RINGLEB, D.

Experimente zur Problematik radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung.

Habil.-Schrift Giessen 1967

--

Zur Problematik radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung.

Fortschr. Med. 86, 1968, 51

ROTHER, W.E., u. M.M. GRENNAN

Radioprotection by mitotic inhibitors and mercaptoaethylamine.

Science 133, 1961, 888

RUTISHAUSER, A., u. W. BOLLAG

Cytological Investigations with a New Class of Cytotoxic Agents: Methylhydrazine Derivatives.

Experientia 19, 1963, 131

RUTSCHMANN, J., u. J. RENZ

Helv. Chir. Acta 42, 1959, 890

Nach EMMENEGGER, H. et al. (1961)

SARTORELLI, A.C.

Approaches to the Combination Chemotherapy of Transplantable Neoplasms.

In: Fortschr. d. exper. Tumorforsch., Bd. 6, hersgb. v. F. HOMBURGER, Basel-New York, 1965, S. 228

SCHAUDIG, H.

Experimentelle Untersuchungen über die Wundheilung unter zytostatischer Behandlung.

Langenbecks Arch. klin. Chir. 301, 1962, 738

SMITH, W.W., u. I.M. ALDERMANN

Studies on colchicine, colchicine derivatives and endotoxin in irradiated animale.
Radiat. Res. 17, 1962, 594

--, --, C.A. SCHNEIDER u. J. CORNFELD

Effect of pretreatment with colchicine or a colchicine derivative on hemopoiesis in irradiated mice.

Radiat. Res. 19, 1963, 621

SCHNEIDER, E.

Zur Möglichkeit der Schädigung des männlichen Keimepithels bei radiologisch-zytostatischer Kombinationsbehandlung.

Inaug. Diss. Med. Giessen 1967

SCHRECKER, A.W., u. J.L. HARTWELL

J. Amer. Chem. Soc. 75, 1953, 5916; 76, 1954, 752; 77, 1955, 432, 6725

Nach EMMENEGGER, H., et al. (1961)

STÄHELIN, A., u. A. CERLETTI

Experimentelle Ergebnisse mit den Podophyllin-Cytostatika SP-S und SP-G.

Schweiz. med. Wochenschr. 94, 1964, 1490

UEHLEKE, H.

Gegenseitige Beeinflussung gleichzeitig gegebener Arzneimittel.

Therapie der Gegenwart 4, 1968, 458

WACHTLER, F.

Über strahlenbedingte Schäden im knöchernen Skelett.

Radiol. Austriaca 12, 1961, 253

WEITZEL, G., F. SCHNEIDER u. A.M. FRETZDORFF

Cytostatischer Wirkungsmechanismus der Methylhydrazine.

Experientia 20, 1964, 38

WILLMANN, H., E.H. GRAUL, H. HUNDESHAGEN u. H. ARNOLD

Ein Beitrag zum Problem der Tumorspezifität von Cyclophosphamid; Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen.

Acta Unio internat. cont. cancun 20, 1964, 276

WISKEMANN, A.

Diskussionsbemerkung Fortbildungskurs Strahlenheilkunde,

Giessen, Nov. 1966.

WRIGHT, E.A., u. P. HOWARD-FLANDERS

The use of the growing mouse tail as a test objekt in radiobiology.

In: Progress in Radiobiology, hersgb. v. J.S. MITCHELL, B.E. HOLMES u.

C.L. SMITH, Edinburgh-London 1956, S. 449

ZELLER, P., H. GUTMANN, B. HEGEDÜS, A. KAISER, A. LANGEMANN u. M. MÜLLER

Methylhydrazine Derivatives, a New Class of Cytotoxic Agents.

Experientia 19, 1963, 129

Herrn Professor Dr. med. Dr. rer.nat. G. Barth schulde ich Dank für die mir gebotenen Arbeitsmöglichkeiten in seiner Klinik, Herrn Privatdozenten Dr. med. D. Ringleb für die Themenstellung zu dieser Arbeit und jederzeit gewährten Hilfe, Frau J. Vaupel für technische Assistenz.

Lebenslauf

Am 21. Mai 1938 wurde ich, Rainer Steckenmesser, in Dillenburg als Sohn des Lehrers Adolf Steckenmesser und seiner Ehefrau Eliese, geb. Schneider, geboren.

Nach 1958 am Realgymnasium am Zietenring in Wiesbaden bestandenen Abitur begann ich im Mai 1958 in Gießen das Medizinstudium, wo ich 1961 im Sommer das Physikum ablegte. Im Wintersemester 1961/62 studierte ich in Innsbruck, ab Sommersemester 1962 bis zum Sommersemester 1964 wieder in Gießen. Nach im Dezember 1964 bestandenen Staatsexamen leistete ich meine gesamte Medizinalassistentenzeit in den verschiedenen Gießener Universitätskliniken ab. Im September 1967 erhielt ich die Approbation als Arzt. Seitdem bin ich als Verwalter einer Wissenschaftlichen Assistentenstelle in der Röntgenabteilung der Chirurgischen Universitätsklinik Gießen tätig.

Schreibdruck in Spezialschrift

Chemoprint^{OHG}

Gießen